LAURA ISABELLA LOPES FAVARO
MARTA MARIA DUARTE CARVALHO VILA

CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATO ANTOCIANÍNICO A PARTIR DOS FRUTOS DA *Jussara* (*Euterpe edulis Martius*) E INCORPORAÇÃO EM BARRAS DE CEREAIS



Atena
Editora
Ano 2023

LAURA ISABELLA LOPES FAVARO
MARTA MARIA DUARTE CARVALHO VILA

CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATO ANTOCIANÍNICO A PARTIR DOS FRUTOS DA *Jussara* (*Euterpe edulis Martius*) E INCORPORAÇÃO EM BARRAS DE CEREAIS



Atena Editora
Ano 2023

CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE

Editora chefe
Profª Drª Antonella Carvalho de Oliveira
Editora executiva
Natalia Oliveira
Assistente editorial
Flávia Roberta Barão
Bibliotecária
Janaina Ramos
Projeto gráfico
Camila Alves de Cremo
Luiza Alves Batista
Nataly Evilin Gayde
Imagens da capa
Laura Isabella Lopes Favarro, app BeFunky
Edição de arte
Luiza Alves Batista

Caracterização de extrato antocianínico a partir dos frutos da Jussara (Euterpe edulis Martius) e incorporação em barras de cereais

Diagramação: Camila Alves de Cremo
Correção: Flávia Roberta Barão
Indexação: Amanda Kelly da Costa Veiga
Revisão: As autoras
Autoras: Laura Isabella Lopes Favaro
Marta Maria Duarte Carvalho Vila

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)

F272 Favaro, Laura Isabella Lopes
Caracterização de extrato antocianínico a partir dos frutos da Jussara (Euterpe edulis Martius) e incorporação em barras de cereais / Laura Isabella Lopes Favaro, Marta Maria Duarte Carvalho Vila. – Ponta Grossa - PR: Atena, 2023.

Formato: PDF
Requisitos de sistema: Adobe Acrobat Reader
Modo de acesso: World Wide Web
Inclui bibliografia
ISBN 978-65-258-0981-6
DOI: https://doi.org/10.22533/at.ed.816231105

1. Alimentos saudáveis. I. Favaro, Laura Isabella Lopes. II. Vila, Marta Maria Duarte Carvalho. III. Título.
CDD 641.302

Elaborado por Bibliotecária Janaina Ramos – CRB-8/9166

Atena Editora
Ponta Grossa – Paraná – Brasil
Telefone: +55 (42) 3323-5493
www.atenaeditora.com.br
contato@atenaeditora.com.br

DECLARAÇÃO DAS AUTORAS

As autoras desta obra: 1. Atestam não possuir qualquer interesse comercial que constitua um conflito de interesses em relação ao conteúdo publicado; 2. Declaram que participaram ativamente da construção dos respectivos manuscritos, preferencialmente na: a) Concepção do estudo, e/ou aquisição de dados, e/ou análise e interpretação de dados; b) Elaboração do artigo ou revisão com vistas a tornar o material intelectualmente relevante; c) Aprovação final do manuscrito para submissão.; 3. Certificam que o texto publicado está completamente isento de dados e/ou resultados fraudulentos; 4. Confirmam a citação e a referência correta de todos os dados e de interpretações de dados de outras pesquisas; 5. Reconhecem terem informado todas as fontes de financiamento recebidas para a consecução da pesquisa; 6. Autorizam a edição da obra, que incluem os registros de ficha catalográfica, ISBN, DOI e demais indexadores, projeto visual e criação de capa, diagramação de miolo, assim como lançamento e divulgação da mesma conforme critérios da Atena Editora.

DECLARAÇÃO DA EDITORA

Leia aqui a matéria que saiu no Jornal Cruzeiro do Sul da cidade de Sorocaba sobre este Projeto de Pesquisa:

Agradeço a minha família por todo o apoio e incentivo que tenho recebido ao longo dos anos. Gratidão eterna!!

Marta Maria Duarte Carvalho Vila

Projeto

À minha querida orientadora, Professora Dra. Marta Maria Duarte Carvalho Vila a forma interessada, extraordinária e pertinente como acompanhou a realização deste trabalho. As suas críticas construtivas, as discussões e reflexões foram fundamentais ao longo de todo o percurso. Não posso esquecer a sua grande contribuição para o meu crescimento como investigadora, desde nosso primeiro projeto juntas na iniciação científica que me motivou desde então. Obrigada pela sua paciência e amizade.

Prof. Dr. Victor Manuel Cardoso Figueiredo Balcão, co-orientador que colaborou com suas sugestões na condução deste trabalho.

A minha querida Liliam Katsue Harada Rocha, que o Mestrado me deu de presente, companheira de labotório e café, meu muito obrigada!

As queridas colegas de laboratório Henriette Marcondes Fonseca de Marco, Welida Francielly de Camargo da Silva, Ludmilla Rodrigues, Erica Silva pela ajuda constante e compartilhamento das emoções. Aos colegas de Pós-Graduação Thatiane Pasquotto, Mariana Guilger, Edson Hidesaki Yoshida e Leandro Feitosa pela amizade.

A todo o pessoal dos Laboratórios de Saúde da Universidade de Sorocaba, pelo auxílio e prontidão. Em especial à Valéria Orsi, Rosenéia Aparecida Leite Tagliaferro, Denicezar Baldo, Thaisa Borin Pickler, Rafaela Pezzutto e Gustavo Alexandre dos Santos, Henrique Trombini Garcia e aos estgiários Diego Paulino, Ana Paloma Sena e Magdyel Vasques.

Ao Professor Dr. José Martins de Oliveira Junior pela realização das análises tomográficas e fluorescência de raios-X.

Às técnicas Fabiana Favoretto e Renata Magueta do Instituto de Química da Unicamp pelas análises de calorimetria diferencial de varredura e de difração de raios -X, respectivamente.

À Professora Dra. Raquel Mendonça de Rosa Castro e à Sílvia Cristiane M. Taima, coordenadora e secretária, respectivamente, do Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade de Sorocaba pela colaboração no processo de submissão do projeto ao Comitê de Ética.

Á professora Dra. Yoko Oshima Franco que cedeu graciosamente as placas cromatográficas.

À Professora Ms. Marcia Sabadim Mendes de Morais pela orientação no

preparo das barras de cereais.

Ao Professor Dr. Júlio César Pereira pela colaboração estatística deste trabalho.

A Coordenadora do Curso de Gastronomia Professora Esp. Maria Ângela Severino pela permissão do uso dos laboratórios.

Às secretárias Claudia Neres, Daniela Rosa e Roseli Carvalho pelas constantes orientações relativas aos trâmites burocráticos.

Ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba pelos ensinamentos transmitidos ao longo dos anos.

À Universidade de Sorocaba pelo apoio financeiro oferecido através da bolsa de estudos.

Livro

Em especial ao meu marido Lucas Santos Herbst, meus queridos amigos Alisson Michel de Oliveira, Gladius Caglia, Gleice Pereira, Marina Merlin, Moreno Mota, Watson Sato. Meu primo Marcos Antônio Athie Andrade, minha mãe Maria Cristina Attie Lopes, seu namorado José Franco de Camargo Junior e a minha avó Ivone Attie Lopes, que prontamente colaboraram para este projeto/sonho se tornar um livro/realidade.

Laura Isabella Lopes Favaro

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

∑	Absortividade molar
(	Ângulo de incidência em relação ao plano considerado. Ângulo de Bragg
eV	Eletrons-Volt
Kα	Radiação de fóton de ligação da camada eletrônica Kα
kV	Quilovolts
Mn-Kα	Radiação de fóton da camada eletrônica Kα do elemento manganês
μA	Microampere
BHI	Brain heart infusion
CCCD	Coleção de cultura Cefar Diagnóstica
CCD	Cromatografia em camada delgada
CEP	Comitê de ética em pesquisa
DPPH	2,2-difenil-1-picrilhidrazil
DSC	Calorimetria diferencial de varredura
FTIR	Espectrofotometria por infravermelho com Transformada de Fourier
GAE	Ácido Gálico
HDL	High Density Lipoproteins
LDL	Low Density Lipoproteins
MM	Massa molar
NP	Éster 2-aminoetil ácido difenilborico
PA	Pró-análise
PEG 4000	Polietileno glicol 4000
Rf	Fator de retenção
SDD	Silicon-drift detector
TCLE	Termo de consentimento livre e esclarecido
TSA	Trypticase soy agar
UFC	Unidade formadora de colônia
UV	Ultravioleta
UVA	Ultravioleta A
UVB	Ultravioleta B
XRD	Difração de raios-X
XRF	Fluorescência de raios-X
μCT	Microtomografia de raios-X

INTRODUÇÃO

Devido ao aumento da procura de produtos alimentícios mais saudáveis e diversificados, a indústria de alimentos tem explorado a criação de novos produtos e tecnologias visando atender um público cada vez mais exigente. A lista de produtos alimentícios que têm sido enriquecidos e/ou fortificados com compostos ativos (vitaminas, probióticos, péptidos bioativos, antioxidantes, etc.) tem sido expressiva nos últimos anos (BETORET et al., 2011). Neste sentido, muitas pesquisas (CELLI et al., 2016; MARTINS et al., 2016) estão sendo desenvolvidas visando aproveitar diferentes recursos naturais com características adequadas para incorporação na dieta humana. A adição de extratos antocianínicos com elevado potencial antioxidante em alimentos encaixa-se neste ramo da indústria alimentícia.

Mais recentemente, a fruta da palmeira Jussara (*Euterpe edulis* Martius) tem sido reconhecida por suas propriedades funcionais para uso em alimentos e produtos funcionais, devido ao seu alto teor de antocianinas e de compostos fenólicos (BICUDO et al., 2015; SCHULZ et al., 2016). A fruta da palmeira Jussara, bem como do açaizeiro *(Euterpe oleracea* Mart.) são denominadas de "super alimentos" em função de suas propriedades nutricionais e funcionais (CUNHA JUNIOR et al., 2016; SCHULZ et al., 2016).

Além disto, o Brasil é o terceiro maior produtor de frutos com aproximadamente 6% da produção mundial (NEVES et al., 2015). No entanto, acredita-se ainda que haja potencial de crescimento neste ramo do agronegócio pela valorização de frutas ainda pouco exploradas comercialmente, como é o caso da fruta da Jussara. O uso de frutas da flora nacional ricas em antocianinas, em medicamentos, cosméticos e nutracêuticos, pode contribuir para a melhora da saúde humana, bem como, promover a sustentabilidade dos recursos naturais (CORADIN; SIMINSKI; REIS, 2011).

Pelos fatos expostos, a presente pesquisa procurou caracterizar um extrato antocianínico obtido da fruta da palmeira Jussara e integrá-lo em barras de cereal, visando desenvolver um alimento funcional. A barra de cereal foi escolhida em função deste produto apresentar elevado potencial para adição de novos ingredientes, fácil consumo, baixo custo e com tendência de consumo crescente (CRISTO et al., 2015).

REVISÃO BIBLIOGRÁFICA

1 I PALMEIRA JUSSARA *(Euterpe edulis* Martius)

As palmeiras são plantas monocotiledôneas da família Arecaceae (Palmae) e representam os maiores símbolos das florestas tropicais e subtropicais. São reconhecidas cinco subfamílias, 240 gêneros e cerca de 2522 espécies (MARTINS, 2012).

Em relação ao gênero *Euterpe*, no Brasil existem cinco espécies, sendo *Euterpe edulis* Martius (palmiteiro ou jussara), *Euterpe catinga* Wallace (açaí da caatinga), *Euterpe oleraceae* Martius (açaizeiro), *Euterpe longibracteata* Barbis Rodrigues (açaí da terra firme), *Euterpe precatória* Martius (açaí do Amazonas) (HENDERSON, 2000).

O gênero *Euterpe* está amplamente distribuído no país ocorrendo de forma contínua ao longo de toda a Mata Atlântica e também em parte do Cerrado (CNCFLORA, 2012). Sua distribuição geográfica vai desde o Rio Grande do Norte, Paraíba, Alagoas, Pernambuco, Sergipe, Bahia, Distrito Federal, Goiás, Minas Gerais, Espírito Santo, Rio de Janeiro, São Paulo, Paraná, Santa Catarina e Rio Grande do Sul, e no Nordeste da Argentina e Sudeste do Paraguai, em florestas tropicais entre o nível do mar e até 1.000 metros de altitude (HENDERSON, 2000).

A espécie *Euterpe edulis*, conhecida também como Jussara, Içara, Palmito Doce, Ripa ou Palmiteiro, é uma palmeira de caule ereto e único, delgado e cilíndrico, com diâmetro de 10 a 15 cm e quando adulta pode alcançar de 20 a 25 m de altura com frutos esféricos de coloração escura. O mesocarpo carnoso (polpa) se encontra entre a casca (epicarpo) e o endocarpo (coquinho). O endocarpo é lenhoso, envolvendo completamente a semente; quando imaturo é facilmente rompido, adquirindo consistência dura quando o fruto apresenta externamente cor roxa (BICUDO, 2014). A coloração passa do verde ao roxo negro durante a maturação. A frutificação dessa palmeira ocorre de maneira abundante entre os meses de março e junho (LIMA et al., 2012). A Figura 1 apresenta a palmeira e a Figura 2 seus frutos.



Figura 1. Palmeira *Euterpe edulis* Martius conhecida vulgarmente como palmeira Jussara

Fonte: https://br.pinterest.com/pin/352477108321782059/



Figura 2. Cacho com frutos maduros de palmeira Jussara (*Euterpe edulis* Martius).

Fonte: http://revistapegn.globo.com/Empreendedorismo/noticia/2016/02/empreendedores-cariocas-criam-acai-mais-sustentavel.html.

A palmeira *Euterpe edulis* é uma espécie não cespitosa, de crescimento lento, sem capacidade de rebrota e dependente de florestas bem preservadas; além disso, vem sendo sistematicamente submetida a uma intensa exploração para a extração do palmito

em praticamente toda a sua área de distribuição (CNCFLORA, 2012; RIBEIRO; MENDES; PEREIRA, 2011). A exploração extrativista contínua e desordenada para a produção de palmito representa opção de renda para as comunidades tradicionais de todo o litoral do Estado de São Paulo, no entanto acarreta risco de extinção da espécie (COSTA et al., 2008). Além disso, a significativa redução da Mata Atlântica e o elevado grau de degradação de grande parte dos remanescentes de floresta contribuem para uma redução do tamanho populacional. Segundo dados do Centro Nacional de Conservação da Flora de 2012 (CNCFLORA, 2012), a palmeira *E. edulis* sofreu nos últimos 60 anos um declínio populacional de, pelo menos, 30 %. Assim, a forte pressão do corte ilegal da palmeira Jussara, a destruição da Mata Atlântica, a extinção de aves, responsáveis pela dispersão das sementes e as mudanças no clima podem levar a espécie à extinção na natureza. Estes motivos levaram a inclusão da palmeira Jussara na Lista Vermelha das espécies da flora do Brasil sob risco de extinção, elaborada pelo Centro Nacional de Conservação da Flora (MOON, 2017). Para reverter esta situação, tem se estimulado o uso da polpa de Jussara, semelhante à forma predominante de consumo do açaí (COSTA et al., 2008; RIBEIRO, MENDES; PEREIRA, 2011).

Os frutos da Jussara apresentam excelentes propriedades nutricionais e compostos bioativos como as antocianinas, flavonóides e ácidos fenólicos os quais fornecem grande potencial antioxidante aos frutos. Embora, acredita-se que a elevada capacidade antioxidante fruta da Jussara deva-se, principalmente, pelas antocianinas, que, por sinal, são os compostos bioativos de maior presença (CARDOSO et al., 2015). Os frutos também apresentam potencial nutricional em função dos altos níveis de proteína, lipídeos, ácidos oléico e linoléico, potássio, cálcio, ferro e manganês (SCHULZ et al., 2015; 2016). A composição dos frutos é bastante variável dependendo do grau de maturação, local, clima, entre outros fatores. No entanto, estudos de diversos pesquisadores apontam a presença predominante das antocianas cianidina-3-rutinosida e de cianidina-3-glucosideo; dos ácidos fenólicos gálico, ferúlico, ρ-cumárico e protocatechuico e dos flavonóides catequina, epicatequina e quercetina (BORGES et al., 2011; SCHULZ et al., 2015; 2016; VIEIRA et al., 2013).

Em estudos toxicológicos comprovou-se também que a fruta da Jussara não apresenta efeitos adversos para a saúde humana e, desta forma, pode ser empregada como ingrediente na criação de alimentos, pode contribuir também para o desenvolvimento de novos fármacos e cosméticos (CARDOSO et al., 2015).

Entretanto, a fruta da Jussara é altamente perecível com reduzido tempo de estocagem, apresentando viabilidade comercial com cerca de 12 horas após a colheita sob armazenamento a 5-10°C (BICUDO et al., 2015). Assim, tem se verificado formas alternativas para o aproveitamento dos frutos, como o uso de extratos secos, polpa congelada e microencapsulação de extratos (BICUDO et al., 2015; CARVALHO et al., 2016; PAIM et al., 2016).

2 | ANTOCIANINAS

O termo antocianina é de origem grega (*anthos* = flor; *kyanos* = azul) responsáveis por uma grande variedade de cores observadas em flores, frutos, folhas, caules e raízes de plantas, que podem variar do vermelho vivo ao violeta e azul (MARKAKIS, 1982; GUIMARÃES; ALVES; ANTONIOSI FILHO, 2012).

As funções desempenhadas por essas substâncias nas plantas são variadas, atuando, principalmente, como antioxidantes e agentes protetores contra a luz UV e patógenos. As cores vivas e intensas que elas produzem têm um papel importante em vários mecanismos reprodutores das plantas, tais como polinização e a dispersão de sementes (LOPES et al., 2007; MACHADO; PEREIRA; MARCON, 2013). As antocianinas concentram-se nos vacúolos das células vegetais e, em alguns casos, quando as frutas apresentam casca removível, como as uvas e jabuticabas, elas concentram-se nos vacúolos celulares das cascas. Nas frutas com características semelhantes às das amoras, estes compostos encontram-se em toda a polpa (CIPRIANO, 2011).

As antocianinas são consideradas o maior e o mais importante grupo de pigmentos naturais solúveis em água, sendo classificados quimicamente como flavonóides (MIGUEL, 2011), devido a sua característica de esqueleto carbônico $C_6C_3C_6$ (DOMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010). São compostos solúveis em água e sensíveis ao calor apresentando-se, na maior parte das vezes, glicosadas com açúcares que auxiliam na estabilização da molécula (TEIXEIRA; STRINGHETA; OLIVEIRA, 2008). Todas as antocianinas são derivadas da estrutura básica do cátion 2-fenilbenzopirona, também denominado cátion flavilium (Figura 3) (GUIMARÃES; ALVES; ANTONIOSI FILHO, 2012), deficiente em elétrons e, portanto, muito reativo. O cátion flavilium contêm duplas conjugadas responsáveis pela absorção de luz ao redor de 500 nm com promoção da cor característica destes pigmentos (CAVALCANTI; SANTOS; MEIRELES, 2011; BURIN et al., 2011).

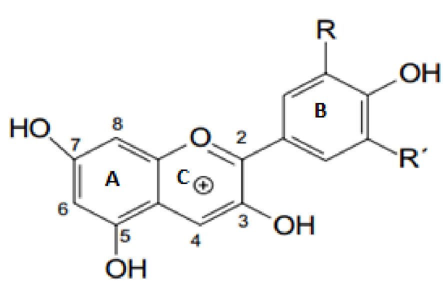


Figura 3. Estrutura básica do cátion flavilium.

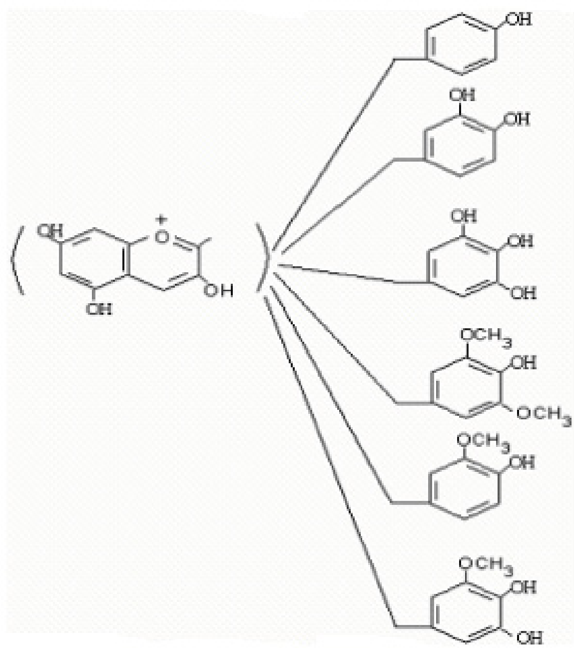
Fonte: Adaptado de GUIMARÃES; ALVES; ANTONIOSI FILHO, 2012.

Mais de 600 diferentes antocianinas já foram identificadas em plantas, no entanto, seis são as mais comumente encontradas na natureza, como indicado na Figura 4. As

antocianinas ocorrem como glicosídeos de poli-hidroxi e/ou polimetoxi derivados do sal flavilium. Elas diferem no número de grupos hidroxila e/ou nos grupos metoxi presentes, tipos, números, sítios de ligação dos açúcares na molécula e tipos e números de ácidos alifáticos ou aromáticos que estão ligados aos açúcares da molécula (DOMODARAN: PARKIN; FENEMA, 2010).

As plantas não somente contêm misturas de antocinainas, mas também proporções relativas que variam com o tipo de cultivo e com a maturidade (DOMODARAN; PARKIN; FENNEMA, 2010).

Estrutura do cátium flavilium **Estrutura do anel B** **Nome**



Pelargonidina

Cianidina

Delfinidina

Malvidina

Peonidina

Petunidina

Figura 4. Estruturas e nomes das principais antocianinas encontradas na natureza.

Fonte: Adaptado de LOPEZ et al., 2007

Em solução aquosa, as antocianinas se encontram comumente na forma de uma mistura de diferentes estruturas químicas em equilíbrio: cátion flavilium (vermelho), base anidra quinoidal (azul), pseudo-base carbitol (incolor), e chalcona (incolor ou levemente amarela), sendo fortemente afetadas pelo pH (Figura 5) (RODRIGUES-ALMAYA, 2016).

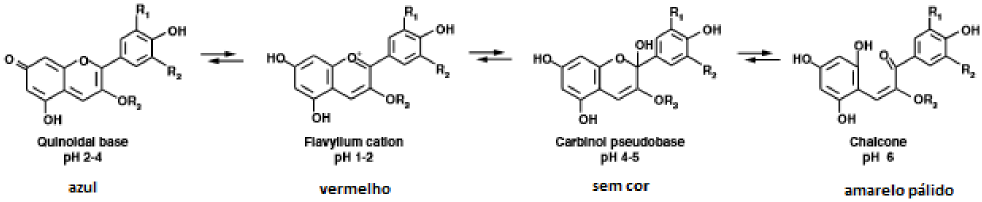


Figura 5. Estruturas do cátion flavilium e suas cores em função do pH do meio

Fonte: adaptado de RODRIGUES-ALMAYA, 2016

As antocianinas isoladas são instáveis e suscetíveis à degradação. A estabilidade é afetada por diversos fatores como pH, temperatura de estocagem, estrutura química, concentração, luz, oxigênio, solventes e a presença de enzimas, flavonoides, proteínas e íons metálicos. A estabilidade é um aspecto de elevada importância, quando se considera o seu emprego como antioxidante ou como corante em alimentos ou medicamentos. Neste sentido, várias pesquisas são focadas na estabilização das antocianinas visando seu emprego industrial (ERSUS; YURDAGEL, 2007; CASTANEDA-OVANDO et al., 2009; SANTOS et al., 2013).

Outro fator que influencia na quantidade de antocianinas extraídas é a temperatura de extração. Elevar a temperatura de extração facilita a liberação das antocianinas dos vacúolos celulares das frutas, além de aumentar a permeabilidade do solvente nas estruturas celulares, aumentando a quantidade de antocianinas extraídas e assim, reduzindo-se o tempo de extração (JU; HOWAR, 2005). No entanto, o aumento da temperatura deve ser inferior a 70°C, pois acentua a degradação posterior dos extratos de antocianinas, recomendando-se que a extração ocorra entre 20 e 55 °C (AURELIO; EDGARDO: NAVARRO-GALINDO, 2008; DAI; MUMPER, 2010; JU; HOWAR, 2005; TERCI, 2004). A degradação das antocianinas acontece por vários mecanismos, podendo ocorrer durante o processamento e estocagem de alimentos levando a formação de produtos de escurecimento insolúveis ou de produtos solúveis incolores (GEOCZE, 2007).

Na indústria de alimentos, as antocianinas são empregadas como corantes naturais em diversos tipos de alimentos (BETZ; KULOZIK, 2011; SILVA et al., 2013). As antocianinas podem ser utilizadas como corantes naturais em substituição aos pigmentos sintéticos, devido a sua baixa toxicidade, e por estarem presentes em várias espécies de plantas facilmente encontradas na natureza (GUIMARÃES; ALVES; ANTONIOSI FILHO, 2012). As antocianinas são inodoras e quase insípidas, contribuindo para o sabor com uma sensação moderadamente adstringente (RAGHVENDRA et al., 2011).

Além disto, a elevada capacidade antioxidante das antocianinas é a “chave” da prevenção das doenças cardiovasculares, desordens neurológicas, câncer e diabetes (BOO et al., 2012; BURIN et al., 2011; CAVALCANTI et al., 2011; PEIXOTO et al., 2016; PORTINHO, ZIMMERMANN; BRUCK, 2012; VIZZOTTO, 2012). Os efeitos benéficos das

antocianinas para a saúde foram documentados em muitos estudos *in vivo* e *in vitro.* Em recente artigo de revisão Li et al. (2017) apresentaram os inúmeros benefícios para a saúde advindos do uso das antocianinas e os prováveis mecanismos envolvidos.

O potencial antioxidante das antocianinas previne doenças como aterosclerose e doenças cardiovasculares. Verificou-se que as antocianinas são capazes de reduzir os níveis de LDL-colesterol (do inglês *Low Density Lipoproteins)* e mostram-se positivas no aumento de HDL-colesterol (do inglês *High Density Lipoproteins)*. Em relação ao câncer alguns autores apontaram a ação antioxidante como protetora do DNA (Ácido Desoxirribonucléico) evitando assim a carcinogênese. Em estudos realizados com animais, observou-se a diminuição dos níveis séricos de colesterol total e sua fração LDL (STRACK; SOUZA, 2012). Segundo Cardoso et al. (2011) estudos mostraram que as antocianinas podem atenuar o estresse oxidativo envolvido no processo aterosclerótico. Vários mecanismos podem estar envolvidos nesse processo, como a capacidade das antocianinas de inibir a oxidação do LDL e reduzir a injúria oxidativa das células endoteliais vasculares.

Pesquisadores concluíram que os benefícios das antocianinas na saúde humana estão relacionados ao seu efeito antioxidante (SANTOS et al., 2014), como já citado acima, no entanto, segundo Li et al (2017) ainda há muito a ser elucidado visando a aplicação em benefício da saúde dos seres humanos.

A indústria alimentícia encontra, nos compostos fenólicos, mais particularmente nas antocianinas, um importante substituinte aos corantes artificiais (MACHADO; PEREIRA; MARCON, 2013). Somando a isto, devido as suas propriedades funcionais, a incorporação de antocianinas em alimentos pode ter, não somente a função de coloração, mas também pode ser positivo para a saúde humana. As propriedades funcionais das antocianinas podem abrir uma nova perspectiva na obtenção de produtos com valor nutricional agregado (MARTINS et al., 2016; ORTIZ et al., 2011).

3 | ALIMENTOS FUNCIONAIS OU NUTRACÊUTICOS

Termos como alimentos funcionais, suplementos dietéticos, nutracêuticos e alimentos enriquecidos têm sido empregados com frequência, uma vez que, pesquisadores e setores da indústria de alimentos têm buscado alternativas para suprir um mercado de alimentação ligado a saúde e ao bem-estar (LIRA et al., 2009). A nutrição, nos dias de hoje, é identificada como uma determinante gerenciável das doenças crônicas. Assim, as evidências científicas e a crescente consciência da correlação entre dieta e saúde tem impulsionado o interesse em produtos alimentares saudáveis (MALLA; HOBBS; SOGAH, 2014). A evolução da ciência da nutrição tem permitido que muito se saiba sobre a ação de cada nutriente no organismo. As pesquisas vêm demonstrando que algumas substâncias normalmente presentes nos alimentos, denominadas compostos bioativos, mas ainda não consideradas como nutrientes, podem ser importantes, principalmente para redução do

risco de doenças (COZZOLINO, 2012).

De modo geral, a qualidade de vida humana em termos de renda e gastos melhorou com o desenvolvimento da economia. No entanto, também lançou um desafio na forma de "estilo de vida" *versus* "doenças crônicas". Mudanças nos hábitos alimentares, com o consumo de alimentos chamados de *junk food* (produtos com alto teor calórico, mas com níveis reduzidos de nutrientes); sedentarismo, envelhecimento populacional, etc., tem propiciado o aumento de diversas doenças crônicas, com elevação dos custos de tratamento. Além disto, doenças características de uma era moderna, como obesidade, osteoporose, câncer, diabetes, alergias e problemas dentários, são problemas de saúde que podem ser amenizados com uma dieta equilibrada (CENCIC; CHINGWARU, 2010). Neste sentido, os nutracêuticos, alimentos funcionais ou alimentos enriquecidos podem desempenhar um papel importante no combate às doenças associadas aos maus hábitos alimentares (MALLA; HOBBS; SOGAH, 2014; PANDEY; VERMA; SARAF, 2010).

Alimentos enriquecidos são aqueles aonde são adicionados um ou mais nutrientes essenciais, tais como vitaminas, minerais e ou aminoácidos segundo a Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998, com a função de reforçar o seu valor nutritivo (BRASIL, 1998). Como exemplos de alimentos fortificados podem ser citados a farinha de milho e a de trigo que têm obrigatoriamente que serem enriquecidas com ferro e ácido fólico, segundo a determinação do Ministério da Saúde (BRASIL, 2002) visando a redução da prevalência de anemia ferropriva e doenças do tubo neural durante a formação do embrião, respectivamente (ANVISA, 2017).

O termo alimento funcional é aquele empregado para o alimento que promove mais do que uma simples nutrição, somando efeitos fisiológicos benéficos aos consumidores. A legislação brasileira não possui uma definição para alimento funcional, mas institui uma definição de "propriedade de saúde e funcional" para estabelecer diretrizes para sua utilização, bem como condições para registro de alimentos (BRASIL, 1999). Segundo Cozzolino (2012), alimentos funcionais são aqueles que melhoram ou afetam a função corporal, além do seu valor nutricional normal. São alimentos que, além de sua função primordial de nutrir, teriam também características específicas que contribuiriam para redução do risco de doenças. Outros autores indicam que um alimento funcional é aquele semelhante na aparência a um alimento convencional, o qual, além da nutrição básica, beneficia as funções fisiológicas e metabólicas proporcionando boa saúde física e mental, podendo reduzir riscos de doenças crônico-degenerativas.

Alimentos funcionais devem fazer parte da alimentação usual proporcionando efeitos benéficos sem a necessidade de acompanhamento médico, não serem tóxicos, e que não se destinem a tratar ou curar doenças, estando seu papel ligado à redução do risco de contrair doenças (BASHO; BIN, 2010). A propriedade funcional dos alimentos deve estar relacionada ao papel metabólico ou fisiológico que um nutriente (por exemplo fibra) ou não nutriente (por exemplo, licopeno) tem no crescimento, desenvolvimento,

manutenção e outras funções do organismo. Estes alimentos devem conter ingredientes que podem auxiliar, na manutenção de níveis saudáveis de triglicerídeos, na proteção das células contra os radicais livres, no funcionamento do intestino, na redução da absorção do colesterol, no equilíbrio da flora intestinal, entre outros, desde que seu consumo esteja associado a uma alimentação equilibrada e hábitos de vida saudáveis (ANVISA, 2017). A tabela 1 apresenta algumas das principais características dos alimentos funcionais.

Consumo	Devem ser alimentos convencionais e serem consumidos na dieta normal/usual.
Composição	Devem ser compostos por componentes naturais, algumas vezes, em elevada concentração ou presentes em alimentos que normalmente não os supririam.
Efeitos para a saúde	Devem ter efeitos positivos além do valor básico nutritivo, que pode aumentar o bem-estar e a saúde e/ou reduzir o risco de ocorrência de doenças promovendo benefícios à saúde além de aumentar a qualidade de vida, incluindo os desempenhos físico, psicológico e comportamental.
Propriedade funcional	A alegação da propriedade funcional deve ter embasamento científico.

Tabela 1. Características dos alimentos funcionais

Fonte: MORAES; COLLA, (2006).

Já o nutracêutico é um alimento ou parte de um alimento que proporciona benefícios médicos e de saúde, incluindo a prevenção e/ou tratamento da doença. Tais produtos podem abranger desde os nutrientes isolados, suplementos dietéticos na forma de cápsulas e dietas até os produtos beneficamente projetados, produtos herbais e alimentos processados tais como cereais, sopas e bebidas (MORAES; COLLA, 2006). Outros autores (COZZOLINO, 2012) indicam que nutracêuticos são como compostos bioativos apresentados na forma farmacêutica, como em cápsulas, comprimidos, tabletes etc.

Pode-se concluir que o alvo dos nutracêuticos é diferente dos alimentos funcionais. Os nutracêuticos visam a prevenção e o tratamento de doenças e não apenas a redução do risco da doença. Os alimentos funcionais têm como objetivo somente redução dos riscos das doenças. Além disto, os nutracêuticos incluem suplementos dietéticos e outros tipos de alimentos, os alimentos funcionais devem estar na forma de um alimento comum (MORAES; COLLA, 2006).

Assim, como exposto, devido ao aumento da procura de produtos alimentícios mais saudáveis e diversificados, a indústria de alimentos funcionais/nutracêuticos tem explorado a criação de novos produtos (PAIM et al., 2016). A adição combinada de pigmentos antocianínicos com elevado potencial antioxidante em alimentos tais como barras de cereais (APPLET et al., 2015), pós probióticos para o preparo de bebidas (PAIM et al., 2016), iogurte (LEITE, 2015), entre outros produtos, encaixa-se neste ramo da indústria

alimentícia.

4 I BARRAS DE CEREAIS

O mercado de barras de cereais e alimentos associados a produtos saudáveis tem apresentado um crescimento constante, levando a indústria a diversificar a variedade de sabores e atributos, como produtos adicionados com diferentes nutrientes; produtos desenvolvidos para um nicho de população específica ou ainda, com novas características que tragam benefícios para saúde (SOUZA, 2014). Neste sentido, as barras de cereais podem ser um tipo de alimento adequado para a incorporação de substâncias que tragam benefícios a saúde. As barras de cereais estão entre os produtos prontos para comer considerados mais sofisticados devido aos seus ingredientes e o fato de serem consideradas saudáveis (MENDES et al., 2013). Deste modo, a associação entre barras de cereais e alimentos saudáveis é uma tendência no setor de alimentos, o que beneficia o mercado destes produtos (COLUSSI et al., 2013).

As barras de cereais foram desenvolvidas a partir da necessidade de ter um produto capaz de reunir praticidade e qualidade nutricional para melhorar ou substituir os lanches da manhã e da tarde e como complemento das principais refeições. Os principais componentes da barra de cereais são fibras e carboidratos de rápida absorção (FABER; YUYAMA, 2015). Vários são os ingredientes normalmente utilizados no preparo na produção de barras de cereais, podendo-se listar aveia, soja, flocos de arroz, flocos de milho, flocos de cevada, edulcorantes naturais ou artificiais, gordura ou óleo vegetal, frutas secas diversas, sementes oleaginosas, sal, estabilizantes, aromatizantes, cobertura de chocolate, etc. (MENDES et al., 2013). A produção de barras de cereais é feita basicamente em duas etapas, sendo a primeira a mistura e compactação dos ingredientes sólidos (cereais, nozes e castanhas, frutas diversas, etc.). Na segunda segue- se o acréscimo dos ingredientes ligantes, como calda de açúcar, xarope de glucose, mel, etc. (MENDES et al., 2013).

Dentre estes componentes, destaca-se a aveia (*Avena sativa* L.). A aveia é um cereal de excelente valor nutricional, que pode ser utilizado na elaboração de produtos de valor calórico reduzido e como fonte de fibras alimentares, atendendo às características de alimento funcional. A aveia tem recebido grande atenção por parte de médicos, nutricionistas, consumidores e entidades reguladoras devido às suas características nutricionais, e principalmente devido ao seu teor e qualidade das fibras alimentares (COLUSSI et al., 2013; GUTKOSKI et al, 2007).

Além disto, em função do sucesso de consumo e aceitação da barra de cereais como um alimento saudável verifica-se, cada vez mais, tentativas de adicionar produtos com características funcionais ou ainda, visando o aproveitamento de espécies regionais neste tipo de alimento. Vários exemplos na literatura científica podem ser citados neste sentido. Faber e Yuyama (2015) desenvolveram barras de cereais empregando frutas

da região Amazônica como cupuaçu (*Theobroma grandiflorum*) e açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) visando aumentar o teor de fibras e proteínas. Applet et al. (2016) criaram uma barra de cereal utilizando um tipo de farinha obtida da casca de jabuticaba (*Myrciaria cauliflora*). Mendes et al. (2013) apresentaram uma barra de cereal utilizando o fruto do baru (*Dipteryx alata*). Silva et al. (2016) desenvolveram uma barra de cereal com uma espécie de farinha obtida da fruta da palmeira Jerivá (*Syagrus romanzoffiana*) comum no norte do Brasil.

5 I ANÁLISE SENSORIAL DE ALIMENTOS

O consumidor tende a se tornar mais seletivo e exigente na hora de adquirir os alimentos à sua disposição. Em virtude disso, as indústrias precisam inovar ou desenvolver produtos que antecipem essas necessidades para surpreender o consumidor e ganhar mercado. Um alimento além de suas qualidades nutricionais deve produzir satisfação e ser agradável ao consumidor. Assim, no desenvolvimento de um novo produto, é fundamental avaliar o equilíbrio de diferentes parâmetros de qualidade sensorial. Para isto são realizadas as chamadas análises sensoriais (BARBOSA; FREITAS; WASZCZYNSKYJ, 2003).

A análise sensorial é realizada em função das respostas transmitidas pelos indivíduos às várias sensações que se originam de reações fisiológicas e são resultantes de certos estímulos, gerando a interpretação das propriedades intrínsecas aos produtos. Neste tipo de avaliação, os indivíduos, por meio dos próprios órgãos sensoriais, numa percepção somato-sensorial, utilizam os sentidos da visão, olfato, audição, tato e gosto (IAL, 2008).

Para se fazer uma análise sensorial de um produto, existem vários métodos com diferentes objetivos. Os métodos podem ser divididos em quatro grandes grupos, sendo métodos afetivos, métodos de diferenças ou discriminativos, métodos analíticos ou descritivo, métodos de sensibilidade. Os métodos afetivos consistem na manifestação subjetiva do analista sobre o produto testado, demonstrando se tal produto agrada ou desagrada, se é aceito ou não, se é preferido a outro. Os métodos de diferença são realizados através de testes que irão indicar a existência ou não de diferença entre amostras analisadas. Métodos analíticos ou descritivos são assim denominados por descreverem e quantificarem as informações a respeito da característica que está sendo avaliada. Por fim, os métodos de sensibilidade geralmente são utilizados para avaliar a sensibilidade do analista ao sabor (TEIXEIRA, 2009).

Dentre os testes descritivos estão os testes de escala, os quais podem ser ainda divididos em três tipos principais, que são escalas hedônicas, escalas hedônicas faciais, e escalas numéricas. Hedônica é uma palavra de origem grega que significa “prazer” e os métodos que utilizam as escalas hedônicas são aplicados quando se deseja medir graus de satisfação (LIM, 2011; TEIXEIRA, 2009).

Na avaliação de atributos dos produtos alimentícios utilizam-se escalas hedônicas com o intuito de saber o quanto as amostras diferem entre si e qual a amostra que

apresenta maior intensidade do atributo sensorial que está sendo medido. O uso de escalas hedônicas é amplamente recomendado em desenvolvimento de novos produtos, para estabelecer a natureza das diferenças entre amostras ou produtos (BARBOSA; FREITAS; WASZCZYNSKYJ, 2003).

PARTE EXPERIMENTAL

1 I MATERIAL

Todos os reagentes utilizados neste trabalho de pesquisa foram de grau de pureza farmacêutico, grau analítico PA (Pró-Análise) ou alimentício. A água utilizada no preparo das soluções e reagentes foi purificada em sistema Milli-Q®.

Os frutos da Jussara (*Euterpe edulis* Martius) utilizados para obtenção do extrato antocianínico foram gentilmente doados pela empresa Floricultura Campineira (Campinas, SP). Os frutos foram manualmente colhidos de exemplar localizado no sítio São Domingos em Jaguaríuna, SP, em outubro de 2016. Os frutos foram armazenados congelados (-4 °C) até o preparo do extrato, o qual também permaneceu em freezer (-4 °C) durante todo o tempo de realização do trabalho de pesquisa, período este compreendido entre outubro de 2016 à março de 2017.

As cepas utilizadas nos ensaios microbiológicos foram *Staphylococcus aureus* (CCCD-S0079 Coleção de Cultura Cefar Diagnóstica), *Pseudomonas aeruginosa* (CCCD-P004) e *Escherichia coli* (CCCD-E003), fornecidas por CEFAR Diagnostica (Jurubatuba / SP, Brasil). Os meios de crescimento microbiológico utilizados foram BHI (Brain Heart Infusion) dos Laboratórios HiMedia (Mumbai, Índia) e ágar bacteriológico da Prodimol Biotecnologia S.A. (São Paulo / SP, Brasil).

O material de embalagem utilizado para proteção das barras de cereais foram sachês farmacêuticos laminados compostos por camadas de poliéster 17 g/m^2; adesivo; alumínio 0,008 mm 21,6 g/m^2; adesivo; polietileno 45 g/m^2 com tamanho de 7,0 cm x 7,0 cm, adquiridos da empresa Tepron Equipamentos para Laboratórios (São Paulo, Brasil).

Para o preparo das barras de cereais os componentes foram adquiridos em firmas especializadas em produtos alimentares atendendo aos atributos nutricionais e sanitários adequados ao uso alimentar. As fórmulas das barras de cereais estão apresentadas na Tabela 2.

Ingredientes	% (m/m) Formulação L10	% (m/m) Formulação L 24	% (m/m) Formulação L07	% (m/m) Formulação L90
Aveia em flocos	9,0	9,0	9,0	9,0
Farelo de aveia	9,0	9,0	9,0	9,0
Flocos de arroz	16,6	16,6	16,6	16,6
Abacaxi desidratado	21,0	21,0	21,0	21,0
Coco desidratado	6,0	6,0	6,0	6,0
Ácido cítrico	0,04	0,04	0,04	0,04
Glicose milho	20,0	20,0	20,0	20,0
Extrato antocianínico	0	0,25	1,0	2,0
Açúcar mascavo	15,0	15,0	15,0	15,0
Água mineral	3,9	3,9	3,9	3,9

Tabela 2. Ingredientes utilizados na formulação da barra de cereal com adição de extrato antocianínico.

Fonte: SOUZA, 2014.

2 | EQUIPAMENTOS

Os equipamentos científicos utilizados e disponíveis na Universidade de Sorocaba incluíram espectrômetro de absorção na região do infravermelho com transformada de Fourier da marca Shimadzu modelo IR Affinity-1S (Kyoto, Japão); espectrofotômetro UV-Vis da Lengguang Technology Co, modelo Gold Spectrumlab 53 (Xangai, China); tomógrafo por transmissão de raios-X Skyscan 174 Micro CTScanner empregando *software* para o processamento das imagens tomográficas CTVox™ (versão 2.6.0 r908-64bit, da Bruker microCT) e CTan™ (versão 1.13.5.1-64bit, da Bruker microCT) e CTvol (versão 2.2.3.0-64 bits, da Bruker microCT); espectrômetro de fluorescência de raios-X da marca Amptek (Bedford, Massachussetts, EUA); refratômetro portátil digital da marca Hanna Instruments Brasil, modelo HI 96801 (Barueri, São Paulo); refratômetro Abbe (Tipo WYA-2WAJ) da marca Shanghai YiCe Apparatus & Equipment co LTD (Xangai, China), balança analítica da marca Tecnal, modelo SHI-AUY-220 (Hong Kong, Taiwan), balança analítica da marca Explorer Ohaus, modelo 220 (EUA), seladora manual da Tepron Equipamentos para Laboratórios (São Paulo, SP); ultrapurificador de água da marca Milli-Q, modelo Elga Purelab (Molsheim, França), estufa de incubação microbiológica da marca Fanen, modelo 515 (São Paulo, Brasil) e capela de fluxo laminar unidirecional da marca Quimis, modelo

Q216F20M (Diadema, São Paulo).

Também foram utilizados difrator de raios-X da marca Shimadzu, modelo XRD7000 (Kyoto, Japão) e calorímetro diferencial de varredura da marca Shimadzu, modelo DSC-60 (Kyoto, Japão) do Instituto de Química da Universidade de Campinas (Unicamp).

3 I MÉTODOS

3.1 Preparo dos extratos antocianínicos

O procedimento utilizado para a extração das antocianinas a partir dos frutos da Jussara realizou-se de acordo com as especificações de Favaro (2008), com pequenas modificações. A extração realizada foi macerando o fruto da Jussara na proporção 1:1 (fruta:solvente, m/v), utilizando-se como solvente uma solução hidroalcoólica na concentração de 94% (v/v).

A infusão (frutos e solvente) foi deixada em banho termostatizado à 55 °C e, após 30 minutos, o macerado foi filtrado em papel de filtro qualitativo, obtendo-se assim o extrato úmido. Deixou-se o extrato úmido na capela com circulação de ar por aproximadamente 6 horas, na ausência de luz, para evaporação do solvente, obtendo-se desta forma o extrato seco. Armazenou-se o extrato obtido em embalagem de polietileno, protegido da luz em temperatura de congelação (-4 ºC).

3.2 Caracterização do extrato antocianínico

3.2.1 Determinação da concentração de açúcares através do índice de refração

O índice de refração é a razão entre a velocidade de radiação de uma frequência particular no vácuo e a velocidade de radiação da mesma frequência no meio considerado. Ao atravessar um meio material o componente elétrico da luz interage com os elétrons das moléculas provocando a redução na velocidade de propagação da mesma. A alteração na velocidade de propagação da luz resulta em uma alteração na direção de propagação, indicado como índice de refração. O índice de refração de uma solução varia regularmente com a concentração do soluto. Deste modo, o método refratométrico tem sido utilizado para as medidas de sólidos solúveis como açucares e ácidos orgânicos, principalmente em frutas e produtos de frutas (CECCI, 2003).

O teor de açúcar do extrato antocianínico foi determinado utilizando-se um Refratômetro Abbe (Tipo WYA-2WAJ). Para estas medidas, preparou-se uma solução aquosa do extrato na concentração de 100 mg ml^{-1}, a qual foi adicionada uma gota no prisma de cristal do refratômetro e determinado o índice de refração relacionado este com o °Brix (SUCROSE CONVERSION TABLE, 1981).

3.2.2 Quantificação do teor de antocianinas

O teor das antocianinas nos extratos obtidos foi quantificado por espectrofotometria pelo método do pH diferencial (AOAC, 2005), baseado na sensibilidade destes compostos ao pH do meio (TEIXEIRA; STRINGETA; OLIVEIRA, 2008). Pesou-se 0,05 g de extrato. Dissolveu-se em água deionizada em balão volumétrico de 25 mL, obtendo-se assim a solução estoque de concentração 2 mg.mL^{-1}. Adicionou-se 500μL da solução estoque em dois balões volumétricos de 5,0 mL cada, e o volume foi completado em um dos balões com solução de pH 1,0 e, no outro, com solução de pH 4,5. Procedeu-se a leitura em espectrofotômetro em 520 nm e 700 nm nas duas soluções obtidas. Todas as medidas foram feitas em triplicatas.

A solução pH 1,0 foi preparada a partir da mistura de soluções de KCl (0,2 mol L^{-1}) e HCl (0,2 mol L^{-1}). O pH 4,5 foi preparado a partir de solução de acetato de sódio (0,2 mol L^{-1}) e HCl (1,0 mol L^{-1}).

Para o cálculo da absorbância foi empregada a equação abaixo (equação 1).

$$A = (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH\ 1,0} - (A_{510nm} - A_{700nm})_{pH\ 4,5} \qquad \textbf{(Equação 1)}$$

Onde A = o valor da absorbância medida e o subíndice = comprimento de onda da leitura.

Calculou-se o conteúdo de antocianinas como cianidina-3-glicosídeo (MM = 449,2 Da) através da equação 2, sendo expresso em mg de antocianinas por 100 g da fração da amostra analisada. O método do pH diferencial utiliza como padrão a cianidina-3-glicosídeo, uma vez que esta antocianina está em praticamente todas as frutas vermelhas (FAVARO, 2008).

$$C(mg.100g\ fruta) = \frac{Ax\ PMx\ FDx\ 10^3}{\mathcal{E}\ x\ 1} \qquad \textbf{(Equação 2)}$$

Onde A= absorbância; MM= massa molecular da cianidina-3-glicosídeo (449,2 g.mol^{-1}); FD= fator de diluição (igual a 10); Ɛ= absortividade molar (26900 mol L^{-1}cm^{-1}); 1 = espessura da cubeta (1 cm); 10^3 = fator de conversação de g para mg.

3.2.3 Atividade antioxidante

Para a determinação da atividade antioxidante do extrato foram utilizados dois métodos analíticos, sendo pelo método da captura do radical livre por 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) e pelo método do complexo do fosfomolibdênio, abaixo descritos.

3.2.3.1. Determinação da atividade antioxidante total pela captura do radical livre por 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH)

Para o teste com DPPH (2,2-difenil-1- picril-hidrazil) seguiu-se metodologia descrita originalmente por Brand-Wilians, Cuvelier e Berset (1995) com adaptações (DUARTE-

ALMEIDA et al., 2006). O método é baseado na captura do radical DPPH por substâncias antioxidantes, produzindo um decréscimo da absorbância. O DPPH que possui cor púrpura é reduzido formando difenil-picril-hidrazina, de coloração amarela, com consequente redução da absorção. O reagente denominado DPPH foi obtido dissolvendo-se 4 mg de 2,2-difenil-1-picrilhidrazil (DPPH) em 100mL de metanol. As amostras foram preparadas na concentração de 0; 1,0; 5,0; 10,0; 20,0 mg/mL em meio aquoso. O controle negativo foi feito pela adição de água e reagente. A água ultrapura também foi utilizada como branco, para zerar o aparelho. As amostras para leituras foram preparadas empregando-se 500µL de solução de amostra, ou água (controle negativo) e 3,5mL de reagente DPPH. As amostras foram homogeneizadas e mantidas com proteção da luz por 25 minutos. Após este período foram realizadas as leituras em espectrofotômetro a 517nm. Para o cálculo da % da atividade antioxidante foi empregada a equação 3.

$$\%AA = \frac{A\ controle\ negativo - A\ amostra}{A\ controle\ negativo}\ x\ 100 \qquad \textbf{(Equação 3)}$$

Onde % AA = porcentagem de atividade antioxidante; O controle negativo = absorbância da solução de DPPH sem a amostra; A amostra = absorbância da amostra com o DPPH.

3.2.3.2. Determinação da atividade antioxidante pelo método do complexo do fosfomolibdênio

A atividade antioxidante foi determinada pelo método do complexo fosfomolibdênio fundamentado na redução do molibidênio (VI) a molibidênio (V) ocorrida na presença de substância com capacidade antioxidante com formação de um complexo entre fosfato/molibdênio (V), em pH ácido, o qual é determinado espectrofotometricamente a 695 nm. A coloração amarela, torna-se verde à medida que se reduz (PRIETO; PINEDA; AGUILAR, 1999).

O complexo fosfomolibdênico foi preparado pela reação de solução de Na_3PO_4 (28 mL, 0,1 mol/L^{-1}) com solução de $(NH_4)\ 6Mo_7O_{24}.4H_2O$ (12 mL, 0,03mol/L) e solução de H_2SO_4 (20 mL, 3 mol/L), em meio aquoso. Todas as soluções foram transferidas para um balão volumétrico e o volume foi completado para 100 mL com água ultrapura. As amostras foram preparadas na concentração de 0; 1,0; 5,0; 10,0; 20,0 mg/mL em meio aquoso. Destas soluções, foram tomados 0,3mL e adicionado 3 mL de solução reagente do complexo fosfomolibdênio. Os tubos foram fechados e mantidos em banho-maria a 95 ºC por 90 min. Após resfriamento, procedeu-se a leitura a 695 nm em espectrofotômetro, usando-se água destilada como branco. A capacidade antioxidante das amostras foi expressa em relação à vitamina C (ácido ascórbico, Sigma-Aldrich, Missouri, USA) nas mesmas concentrações das amostras (0; 1,0; 5,0; 10,0; 20,0 mg/mL). A vitamina C é um dos antioxidantes biológicos mais eficazes e mais conhecidos segundo YOUNGSON (1996

apud BALESTRIN et al., 2008).

Os resultados da avaliação da atividade antioxidante foram expressos na forma de atividade antioxidante relativa AAR% (ácido ascórbico) empregando a equação abaixo (equação 4).

$$AAR\% = \frac{Abs\ amostra - Abs\ branco}{Abs\ \text{ácido ascórbico} - Abs\ branco}\ x\ 100 \qquad \textbf{(Equação 4)}$$

Onde AAR% =Porcentagem de atividade antioxidante relativa; Abs amostra = absorção da amostra; Abs branco; Abs = absorbância do ácido ascórbico.

3.2.4 Determinação do teor fenólico total do extrato antocianínico pelo método Folin-Ciocalteu

A determinação do teor fenólico total do extrato antocianínico foi feita pelo método de Folin-Ciocalteu, de acordo com o procedimento descrito por Kiralp e Toppare (2006), com ligeiras modificações.

O reagente de Folin-Ciocalteau consiste de uma mistura dos ácidos fosfomolibídico e fosfotunguístico, no qual o molibdênio e o tungstênio encontram-se no estado de oxidação 6^{+} e, em presença de agentes redutores, como os compostos fenólicos, formam-se os chamados molibdênio azul e tungstênio azul cuja coloração permite a determinação da concentração das substâncias redutoras (SOUZA et al., 2007).

Em cubetas de acrílico foram adicionados 20 µL de amostra (solução do extrato antocianínico de concentração 100 mg mL^{-1}) mais 1,28 mL de água e 100 µL do reativo de Folin-Ciocalteau. A seguir, as cubetas foram agitadas e na sequência, deixadas em repouso por 5 minutos. Foram adicionados 300 µL de solução saturada de carbonato de sódio a 20% (m/v) em cada cubeta. As cubetas foram novamente agitados e deixadas em repouso durante 2 horas. A leitura foi realizada em espectrofotômetro a 765 nm. Os resultados das absorbâncias foram utilizados para cálculo do teor de fenólicos empregando-se equação da reta. Uma curva padrão foi preparada empregando-se ácido gálico como padrão (grau de pureza ≥ 98% marca Sigma-Aldrich, Missouri, USA). Para obtenção da solução mãe pesou-se 0,5 g de ácido gálico, dissolveu-se em 10 mL de etanol e o volume foi completado para 100 mL. A partir desta solução foram preparadas as concentrações entre 5 a 50 μg mL^{-1}. Os resultados foram expressos em μg de equivalente de ácido gálico (GAE) por g de extrato.

3.2.5 Atividade antimicrobiana pelo método disco-difusão (em culturas bacterianas de Pseudomonas aeruginosa, Escherichia coli e Staphylococcus aureus)

A eficácia antimicrobiana do extrato de antocianina foi determinada através do teste de sensibilidade a antimicrobianos, pela técnica de disco-difusão segundo o padrão do Manual Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI, 2003).

Os ensaios foram realizados utilizando-se cepas bacterianas de *Staphylococcus*

aureus (CCCD-S0079), *Pseudomonas aeruginosa* (CCCD-P004) e *Escherichia coli* (CCCD-E003), adquiridas à empresa Cefar Diagnótica (São Paulo, Brasil). Como controle negativo de inibição de crescimento utilizou-se água ultrapura e como controle positivo de inibição de crescimento utilizou-se Penicilina/Estreptomicina para uso em laboratório da Vitrocell (Campinas/SP, Brasil).

Para aplicação dos microrganismos foram preparadas soluções, pela diluição das cepas em solução fisiológica (0,9% NaCl, m/m) estéril, até atingir turbidez equivalente ao padrão 0,5 da escala de McFarland, apresentando absorbância entre 0,08-0,10 no comprimento de onda de 625 nm, de modo a obter aproximadamente $1,5x10^{8}$ UFC mL^{-1} (Unidades Formadoras de Colônias por mL). Em seguida, as culturas bacterianas foram inoculadas em superfície sobre placas de Petri contendo meio de cultura sólido TSA (*Trypticase Soy Agar*) de modo a obter um tapete uniforme de crescimento microbiano. As amostras e controles foram embebidos em discos de papel de filtro estéreis de aproximadamente 7 mm de diâmetro e, com auxílio de pinça esterilizada, foram colocadas suavemente sobre o meio de cultura inoculado nas placas de Petri.

As placas de Petri foram incubadas a 37 ºC por 24 horas. Após este período, as placas foram visualmente inspecionadas e os diâmetros dos halos de inibição de crescimento microbiano foram medidos, tendo as médias dos diâmetros dos halos relacionadas com o potencial de ação antimicrobiana. Para as medidas foi utilizando um paquímetro manual com fonte de luz refletida para iluminar as placas (em posição invertida) sobre um fundo preto e opaco.

Todos os procedimentos envolvidos foram realizados em capela de fluxo laminar unidirecional e todos os materiais e insumos utilizados foram previamente esterilizados. Todas as análises foram realizadas em triplicata.

3.2.6 Cromatografia em camada delgada para triagem de fitoquímicos

O perfil fitoquímico do extrato de antocianina foi avaliado por cromatografia em camada delgada (CCD) de acordo com Costa et al. (2011), utilizando-se cromatofolha de alumínio da marca ALUGRAM XTRA SIL G (Sílica Gel 60), com indicador fluorescente UV254, dimensões de 20 x 20 cm^{2} e espessura de 0,20 mm (Macherey-Nagel, Alemanha).

Como sistema solvente empregou-se uma solução de acetato de etila (100 mL); ácido fórmico (11 mL); ácido acético glacial (11mL) e água (27 mL). A cuba cromatográfica contendo o sistema solvente ou fase móvel foi deixada em repouso, para saturação, por cerca de 30 minutos. Os padrões fitoquímicos utilizados, quercetina e rutina (Sigma-Aldrich, Missouri, USA) foram dissolvidos em metanol (1%, m/v) e aplicados na cromatofolha com auxílio de capilares (capilar 75 mm sem heparina para hematócrito, marca Perfecta, São Paulo, Brasil). O extrato foi solubilizado em água obtendo-se concentração de 100 mg mL^{-1} e aplicado na cromatofolha do mesmo modo. A cromatofolha aplicada com padrões e

amostra foi depositada verticalmente na cuba saturada e mantida fechada para completa migração da fase móvel em sentido ascendente. Após a corrida, esperou-se cerca de 30 minutos para a secagem da placa e, na sequência, borrifou-se sobre a placa os reveladores. Primeiro, aplicou-se uma solução de NP (éster 2-aminoetil ácido difenilborico) 1% em metanol e, após 5 minutos, borrifou-se PEG 4000 (polietileno glicol 4000) 5% em etanol. Depois da placa seca (15 minutos em temperatura ambiente - 25°C) colocou-se a mesma sob luz UV 360 nm (UVGL- 58 Handheld Lamp – Upland, USA). Por fim, a cromatofolha foi analisada registrando-se o padrão de cores e tomando-se as medidas de Rf (fator de retenção). Os RFs foram determinados através da equação 5.

$$Rf = \frac{dr}{dm} \qquad \textbf{(Equação 5)}$$

Onde dr: distância (cm) percorrida pela substância; dm: distância (cm) percorrida pela frente da fase móvel

3.2.7 Cromatografia em camada delgada para a triagem de açúcares

A presença de açúcares no extrato de antocianina foi avaliado por cromatografia em camada delgada de acordo com Skalska-Kaminska et al. (2009), utilizando-se cromatofolha de alumínio da marca ALUGRAM XTRA SIL G (Sílica Gel 60), com indicador fluorescente UV254, dimensões de 20x20cm^2 e espessura de 0,20mm (Macherey-Nagel, Alemanha).

A cuba cromatográfica contendo a fase móvel foi deixada em repouso, para saturação, por cerca de 30 minutos, tendo como fase móvel 1-propanolol (40 mL); acetato de etila (5 mL) e água (5 mL). Como padrões de açúcares foram utilizadas soluções de concentração de 50 mg ml^{-1} de D(+)lactose (Cinética, São Paulo, Brasil); amido solúvel (Labsynth, Diadema, SP); maltose (Sigma, Missouri, USA); D-glicose anidra (Labsynth, Diadema, SP); D-frutose (Labsynth, Diadema, SP); goma arábica (Labsynth, Diadema, SP); sacarose (Sigma, Missouri, USA) e D-galactose (Calbiochem, Dormstadt, Alemanha), os quais foram aplicados na cromatofolha com auxílio de capilares (capilar 75 mm sem heparina para hematócrito, marca Perfecta, São Paulo, Brasil). O extrato foi solubilizado em água obtendo-se concentração de 100mg mL^{-1} e aplicado na cromatofolha do mesmo modo. Após corrida de cerca de 30 minutos, a cromatofolha foi retirada da cuba, seca por aproximadamente 15 minutos em temperatura ambiente (25°C) e, na sequência, aqueceu-se (110°C) para revelação por cerca de 10 minutos em chapa aquecedora (MUCHOUWETI; CHIKWAMBI, 2008). Por fim, a cromatofolha foi retirada da chapa aquecedora, resfriada em temperatura ambiente e comparados os fatores de retenção (Rfs) da amostra e padrões. Os Rfs foram determinados através da equação 5 acima descrita.

3.2.8 Espectrofotometria de absorção no Ultravioleta e Visível

As leituras espectrofotométricas das soluções de extrato, preparadas em diferentes

pHs, foram realizadas na faixa de 190 nm a 800 nm utilizando-se espectrofotômetro UV-Vis de Shimadzu modelo Multispec-1501 (Kyoto, Japão) e cubeta de quartzo.

As soluções foram preparadas em pH 1,0; 2,0; 5,0; 7,0 e 8,0 utilizando-se como solvente diferentes soluções tampão citrato/fosfato (MORITA; ASSUMPÇÃO, 1998), de modo a obter concentração final de 10 mg mL^{-1}.

3.2.9 Espectrofotometria por infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR)

A espectrofotometria por infravermelho com Transformada de Fourier (FTIR do inglês Fourier Transform Infrared Spectroscopy). Esta técnica diz respeito aos movimentos de torção, rotação, deformação e vibração das ligações dos átomos ou grupos de átomos de uma molécula. Quando a radiação incide sobre a molécula, a mesma absorve energia originando uma multiplicidade de vibrações, fornecendo um espectro de absorção característico da molécula (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000).

Os espectros de infravermelho do extrato de antocianina foram obtidos utilizando um espectrofotômetro FTIR de Shimadzu (modelo IR Affinity-1S, Kyoto, Japão), na faixa de 4000 cm^{-1} a 40 cm^{-1} com uma resolução de 4 cm^{-1}.

3.2.10 Difração de raios-X (XRD)

A difração de raios-X (XRD do inglês X-Ray Diffraction) é uma técnica que explora o efeito da interação radiação-matéria, em um contexto de interação elástica entre elementos com dimensões espaciais semelhantes, com a produção de inúmeros elementos de interferência em determinadas posições do espaço. A utilização da difração de raios-X visa determinar aspectos cristaloquímicos do material analisado (TEIXEIRA, 2014).

Os difratogramas por difração de raios X do extrato antocianínico foram obtidos utilizando-se difratômetro Shimadzu, modelo XRD 7000 (Kyoto, Japão) com lâmpada de cobre de radiação Kα (λ = 1,5418 A) e velocidade de varredura de 2°min^{-1}, com 2θ variando de 10° a 50°.

3.2.11 Calorimetria diferencial de varredura (DSC)

Para a caracterização térmica das amostras de extrato de antocianina foi realizada análise de calorimetria diferencial de varredura (DSC- do inglês Differential Scanning Calorimetry). A técnica de DSC é utilizada para medir a diferença de fluxo de calor entre uma substância e um material de referência em função de um programa de aquecimento ou resfriamento (CIENFUEGOS; VAITSMAN, 2000; OLIVEIRA; YOSHIDA; GOMES, 2011).

As curvas DSC foram obtidas sob atmosfera dinâmica de nitrogênio com vazão de 30 mL min^{-1}, razão ou velocidade de aquecimento de 10ºC min^{-1}, faixa de aquecimento de 25 ºC a 400 ºC. Foram utilizados cadinhos de alumínio e cerca de 2 mg de massa de

amostras.

3.2.12 Fluorescência de raios-X (XRF)

A espectrometria de fluorescência de raios-X (XRF do inglês X-Ray Fluorescence Spectromety) é um método analítico fundamentado na detecção de emissão de raios-X por átomos excitados. O comprimento de onda emitido é característico do elemento e é inversamente proporcional à energia. Assim, o elemento pode ser também identificado pela medida da energia do fóton emitido. A intensidade da emissão dos fótons de raio X é diretamente proporcional a concentração do analito da amostra (VINADÉ; VINADÉ, 2005).

A composição elementar do extrato antocianinico foi determinada utilizando um espectrofotômetro de fluorescência de raios-X com dispersão de energia (XRF) da marca Amptek (Bedford, Massachusetts, EUA), composto por um ânodo de prata (Ag) e um detector de raios-X de 25 mm^2 265 SDD (Silicon-Drift Detector) com uma resolução média em energia de 128 eV na linha Mn-Kα. A tensão aplicada ao tubo de raios X foi de 30 kV, 10 µA de corrente, com 10% de tempo de latência no detector.

3.3 Microtomografia computadorizada por transmissão de raios-X do fruto da Jussara

As imagens tomográficas do fruto de Jussara foram realizadas por microtomografia de transmissão de raios X de 3ª geração (OLIVEIRA JUNIOR; MARTINS, 2009).

A tomografia por transmissão de raios-X é um processo de obtenção de imagem reconstruída da seção transversal ou fatia de um corpo, em um computador, utilizando-se um equipamento externo ao computador, o tomógrafo (PEDROTTI et al., 2003). O tomógrafo é composto de um sistema fonte-detector; constituído de uma fonte radioativa; detector acoplado a uma válvula fotomultiplicadora; amplificador de sinal; computador para controle do mecanismo de varredura; aquisição dos dados e reconstrução matemática da imagem e sistema mecânico de varredura tomográfica de terceira geração, previamente descrito por Oliveira Junior e Martins (2009).

O fruto inteiro foi colocado dentro da câmara do tomógrafo, e fatias de imagem foram reunidas usando como configurações do sistema tomográfico tensão de funcionamento ajustada em 35 kV e corrente elétrica com 661 µA.

3.4 Preparo das barras de cereais

O desenvolvimento das barras de cereais com alto teor de fibras foi realizado no Laboratório de Nutrição da Universidade de Sorocaba (UNISO). A manipulação dos ingredientes e a produção das barras foram elaboradas de acordo com as diretrizes estabelecidas pelas Boas Práticas de Manipulação de Alimentos (BRASIL, 2004).

Os ingredientes da calda (xarope de glicose, açúcar mascavo e água) foram dissolvidos em tacho de alumínio, sob aquecimento em chama. Em seguida foi medido o grau Brix da solução empregando-se refratômetro, de modo a atingir 85 ºBrix. Após esse

procedimento, foram adicionados os ingredientes secos, sendo: flocos de arroz, farelo de aveia, aveia em flocos, abacaxi desidratado em pedaços, coco ralado desidratado, ácido cítrico e o extrato antocianínico. Misturou-se manualmente os ingredientes até distribuição igualitária dos componentes. Na sequência, esta mistura foi colocada em tampo de inox e prensada com rolo de polietileno até a espessura aproximada de 1 cm. Em seguida, as barras foram cortadas nas dimensões de cerca de 3 cm de largura e 3 cm de comprimento com o auxílio de uma faca, embaladas em sachês laminados, identificadas e armazenadas em abrigo de luz e em temperatura ambiente. Neste processo foram obtidas as barras de cereais sem extrato antocianínico (L10); barras de cereais com 0,25% (m/m) de extrato antocianínico (L24); barras de cereais com 1,0 (m/m) de extrato antocianínico (L07); barras de cereais com 2,0 (m/m) de extrato antocianínico (L90). O esquema abaixo ilustra o processo de obtenção das barras de cereais (Figura 6).

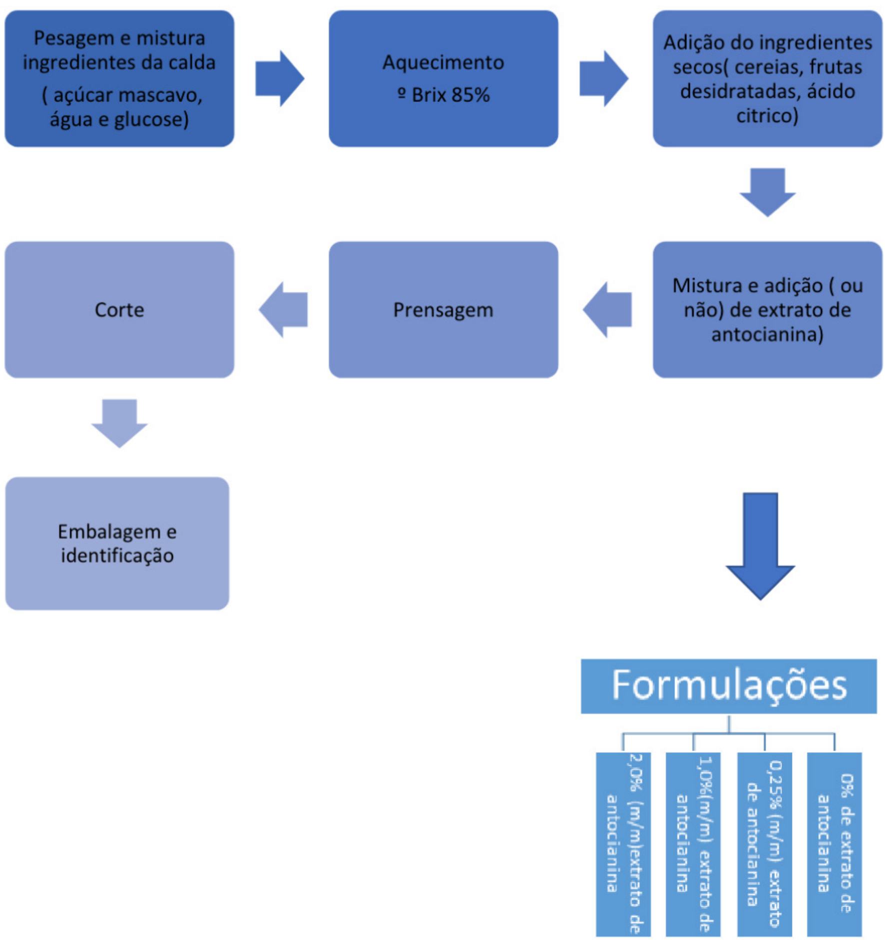


Figura 6. Esquema do preparo das barras de cereais.

Fonte: Elaboração própria.

3.5 Análise Sensorial

Os testes sensoriais foram realizados no Laboratório de Gastronomia da Universidade de Sorocaba (UNISO) e conduzidos pela pesquisadora após a aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade de Sorocaba recebendo o número 2.076.618 sendo apresentado no Anexo I. O teste empregado foi o teste de aceitabilidade do tipo afetivo que avalia a aceitação de um alimento (FNDE, 2010).

Os participantes selecionados realizaram a degustação das barras em local apropriado com total liberdade para expressar qualquer desconforto ou constrangimentos. Todo o processo da análise sensorial foi realizado de modo a manter o anonimato do provador e a confidencialidade dos resultados. O procedimento foi realizado em uma sala de avaliação sensorial com cabines individuais, sob luz branca equivalente a luz do dia.

As quatro amostras de barras de cereais correspondentes às quatro diferentes formulações foram codificadas com 3 dígitos de forma aleatória, que variaram de acordo com teor do extrato antocianínico, sendo amostra L10 (0 mg de extrato); amostra L24 (25 mg de extrato); amostra L07(100 mg de extrato) e amostra L90 (200 mg de extrato). As barras de cereais com peso aproximado de 8 g cada foram servidas aos provadores monadicamente à temperatura ambiente, com um copo de água à temperatura ambiente para enxaguar a boca após cada avaliação. Utilizou-se escala hedônica nominal de 9 pontos, no qual o ponto âncora inferior correspondeu a “desgostei extremamente”, o ponto âncora superior a “gostei extremamente”. Cada provador indicou o quanto gostou ou desgostou de cada atributo, sendo aparência, aroma, sabor, textura e impressão global. Para avaliação da intenção de compra utilizou-se uma escala nominal de 5 pontos, no qual o ponto âncora inferior correspondeu a “certamente não compraria”, o ponto âncora superior a “certamente compraria”. As fichas de avaliação foram apresentadas no Apêndice I.

3.6 Seleção de provadores

Os provadores foram selecionados entre os alunos da Universidade de Sorocaba na faixa etária acima de 18 anos, de ambos os gêneros. O recrutamento dos julgadores realizou-se entre aqueles com hábitos de ingestão de barras de cereal e com disponibilidade para participação nos testes. Antes do início do teste sensorial, cada julgador recebeu e assinou duas vias do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE) (Apêndice II), sendo que uma ficou com o participante da pesquisa e a outra foi arquivada. Neste termo (TCLE) destacou-se a composição da barra de cereais, para que o participante da pesquisa pudesse conhecer a formulação e dar ciência de sua possibilidade de participação por ausência de intolerância alimentar, alergias ou aversões a algum componente. Indivíduos que declararam intolerância alimentar ou alergias a qualquer um dos ingredientes da formulação foram excluídos da pesquisa. Selecionou-se 53 provadores para o desenvolvimento do teste sensorial. Em seguida, o participante recebeu as instruções para

realizar a degustação, tendo o acompanhamento de um monitor que ficou durante o todo o procedimento disponível para esclarecimento de qualquer dúvida.

3.7 Análise estatística

Os experimentos foram delineados em blocos casualizados completos, onde os diferentes tipos de barras de cereais foram chamados de tratamentos e cada indivíduo constituiu um bloco, uma vez que, cada indivíduo avalia os quatro tratamentos. Assim, tem-se um experimento em blocos casualizados completos com quatro tratamentos. Os dados obtidos nas análises sensoriais foram submetidos ao teste não-paramétrico, denominado teste de Friedman (CAMPOS, 1983; ZAR, 2010), empregando-se um nível de significância (α) de 0,05. Para decidir entre as hipóteses H0 *(não há diferença entre os tratamentos quanto a certa característica)* e H1 *(pelo menos dois tratamentos diferem entre si, em relação a uma certa característica)*, calcula-se o valor do teste conforme apresentado em Zar (2010) e o valor-*p*. Se valor-*p* maior que α, não se rejeita H0, caso contrário se valor-*p* menor ou igual a α , rejeita-se H0. Neste caso, não há evidências de diferenças entre os tratamentos quanto a característica em análise. A estatística X^2 do teste de Friedman é dada pelas equações 6 e 7. Para os cálculos matemáticos utilizou-se o software R (R DEVELOPMENT CORE TEAM, 2012).

Também para a interpretação dos resultados foi utilizado, como recurso gráfico, o gráfico do tipo *boxplot* (VALLADARES NETO et al., 2016).

$$X^2 = \frac{\frac{12}{nk(k+1)}\sum_i \quad R_i^2 - 3n(k+1)}{1 - \frac{\sum_j \quad T_j}{nk(k^2-1)}}$$

(Equação 6)

Onde n = o número de blocos (indivíduos); k = o número de tratamentos; R^2_i= a soma das ordens atribuídas aos dados do tratamento i nos n blocos;

$$T_j = \sum_i \quad t_{ij}^3 - k$$

(Equação 7)

7)

Onde t^2_{ij} = o número de observações empatadas do tratamento i no bloco j

RESULTADOS E DISCUSSÃO

1 | PROCESSO DE EXTRAÇÃO

O rendimento do processo de extração das antocianinas foi de aproximadamente 0,1% (m/m). Em comparação com trabalho anterior conduzido no nosso laboratório, onde obteve-se rendimento de cerca de 2% (MARCO, 2017), verificou-se um rendimento bem inferior. Este resultado pode ser atribuído a diferença de maturação na fruta utilizada.

Analisando-se o extrato de antocianina obtido, sob a forma de solução aquosa (100 mg mL^{-1}) obteve-se índice de refração de 1,3340, correspondente a 0,625 °Brix ou 0,625% de sacarose (SUCROSE CONVERSION TABLE, 1981) o que indicou que a fruta utilizada estava pouco madura o que contribuiu para o baixo rendimento. Além disto, não se procedeu a etapa de despolpação diferentemente do processo empregado por Marco (2017). A despolpação, embora forneça um rendimento maior, exige uma etapa laboratorial de extenso trabalho. Neste sentido, justificou-se a eliminação desta etapa.

2 | DETERMINAÇÃO DO TEOR DE ANTOCIANINAS

O teor de antocianina totais do extrato foi determinado espectrofotometricamente através do método de pH diferencial, resultando em uma concentração média (n = 3) de 17,64 ± 1,13 mg antocianina / 100g fruta fresca.

O método de pH diferencial é um método espectrofotométrico rápido e simples baseado na capacidade das antocianinas em absorver luz na região do visível, compreendida entre 496 e 550 nm, diferentemente da grande parte dos flavonóides, que absorvem luz na região entre 350 e 380nm (TEIXEIRA; STRINGHETA; OLIVEIRA, 2009). Contudo, o método não permite a quantificação de antocianinas isoladas (GOUVÊA et al., 2012).

A análise de antocianinas pelo método de pH diferencial consiste em efetuar leitura espectrofotométrica do extrato em tampão pH 1,0 e pH 4,5, baseando-se na sensibilidade destes compostos ao pH. Em meio extremamente ácidos (pH 1,0) as antocianinas apresentam intensa coloração vermelha, pois há o predomínio da forma cátion flavilicum. No entanto, ao elevar o pH para 4,5 estabelece-se condição em que as antocianinas praticamente não apresentam cor pela predominância da espécie pseudobase carbinol, apresentando menor absorção de energia (FIGUEIREDO et al., 2009; LEE; DURST; WROLSTAD, 2005). A diferença de absorvância observada possibilita estimar a fração real de antocianina presente. Além disto, a diferença entre os comprimentos de onda fornece uma absorbância livre de compostos de degradação, quantificando apenas as antocianinas (RIBEIRO; MENDES; PEREIRA, 2011). Neste método, o teor de antocianina obtido é expresso como equivalentes de cianidina-3-glucósido, visto que, de acordo com vários autores (SCHULZ et al., 2015; LEE; DURST; WROLSTAD et al., 2005; GIUSTI; WROLSTAD, 2001), é o pigmento de antocianina mais comum encontrado na natureza.

O teor de antocianinas em frutos varia muito em função de fatores, tais como, clima, região, índice pluvial, incidência de luz e, principalmente, pelo grau de maturação da fruta. Durante a maturação modificações bioquímicas, fisiológicas e estruturais contribuem na determinação dos diversos atributos de qualidade das frutas e, consequentemente, na presença de fitocompostos (SCHULZ et al., 2015). A maior incidência de energia solar no fruto de Jussara estimula a síntese de antocianinas. As bagas localizadas nas partes externas da palmeira de Jussara recebem mais luz solar, cuja intensidade afeta a metabolismo e síntese de flavonóides em geral, estimulando a produção e acúmulo de antocianinas (BORGES et al., 2011; TERPINC; ABRAMOVIC, 2010; TOMÁS-BARBERAN; ESPÍN, 2001). De fato, estes fatores podem ter um grande impacto na quantidade e na qualidade de extrato de pigmento que pode ser produzido.

No trabalho de Borges et al. (2011) foram analisados extratos de frutas de Jussara de vários locais no Brasil e obtiveram diferenças significativas no conteúdo total de antocianinas, variando de 14,84 ± 2,11 a 409,85 ± 2,33 mg antocianina / 100g de polpa ou fruta fresca de matéria de fruta. Já Schulz et al. (2015) analisaram teores de antocianinas de frutas de Jussara em diferentes fases de amadurecimento e também observaram valores bastante dispares, com variações entre 18,76 ± 2,9 a 634,26 ± 195,02 mg antocianina / 100 g de fruta. Pode-se afirmar que variação nos níveis de antocianinas nos extratos de frutos Jussara analisados por Borges et al. (2011) foram em partes atribuíveis a diferenças nas condições de crescimento, enquanto as diferenças relatadas por Schulz et al. (2015) foram atribuído a diferentes estágios de amadurecimento. Estes trabalhos indicam a dificuldade na padronização de extratos brutos em relação ao conteúdo de antocianinas.

3 | ATIVIDADE ANTIOXIDANTE

A variação da atividade e a concentração de compostos fenólicos promovidos por condições abióticas, como discutido acima, também influenciam a atividade antioxidante dos frutos de Jussara. Durante o processo de maturação dos frutos, a presença, a concentração e a interação entre diferentes compostos fenólicos pode causar incremento ou decréscimo da atividade antioxidante (BORGES et al., 2011). Estas variações na atividade antioxidante nos frutos da Jussara também foram observadas por Schulz et al. (2015).

A grande diversidade de compostos polifenólicos antioxidantes presentes na fruta de Jussara cria uma matriz biológica complexa que contribui para a capacidade antioxidante desta fruta, mas as antocianinas aparentemente predominam na contribuição para a capacidade antioxidante dos frutos da Jussara (BICUDO; RIBANI; BETA, 2014; BORGES et al., 2011; HIDALGO; SÁNCHEZ-MORENO; PASCULA-TERESA, 2010). A atividade antioxidante das antocianinas ocorre através da doação de elétrons ou átomos de hidrogênio para as hidroxilas de radicais livres formados durante os processos de oxidação (CARDOSO et al., 2015).

O método por captura do radical livre DPPH (2,2-difenil-1-picrilidrazil) é um procedimento químico, utilizado para determinar a capacidade antioxidante de um composto em sequestrar radicais livres, sendo um dos mais utilizados para avaliar a capacidade antioxidante de frutas. Esta metodologia é considerada rápida, prática e com boa estabilidade. O DPPH é um radical de nitrogênio orgânico, estável, de cor violeta, que possui absorção entre 515-520 nm. A redução do radical DPPH é acompanhada pelo decréscimo da absorbância durante a reação. Na presença de um doador de hidrogênio ou elétron a intensidade de absorção diminui e a solução com o radical perde cor, tornando-se amarela, de acordo com o número de elétrons capturados, ou seja, quando o elétron desemparelhado do átomo de nitrogênio no DPPH recebe um átomo de hidrogênio proveniente de compostos antioxidantes, ocorre a mudança de cor (SUCUPIRA et al., 2015).

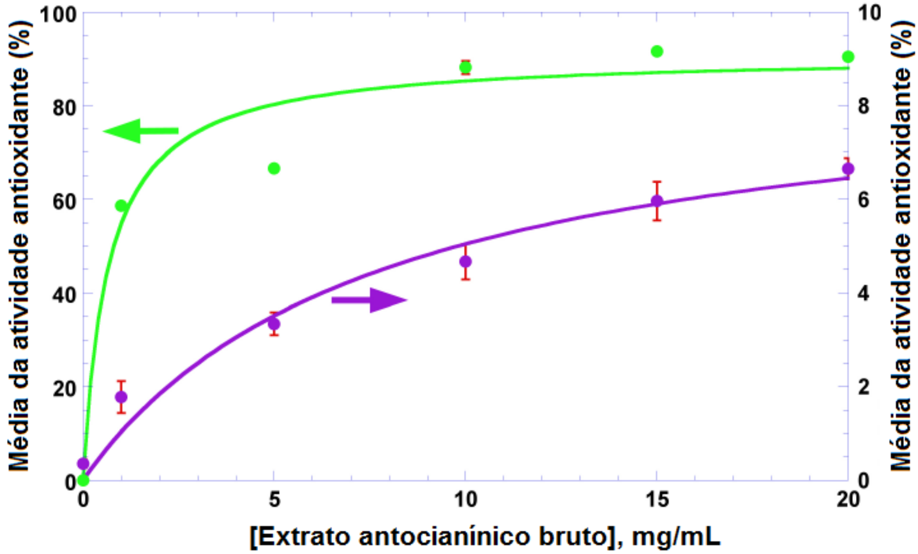
Com fator limitante analítico, o DPPH pode interagir com outros radicais e a curva de resposta em relação ao tempo pode não ser linear em diferentes proporções de antioxidante/DPPH (KEDARE; SINGH, 2011). Além disto, nenhum ensaio empregado isoladamente para determinar a capacidade antioxidante irá refletir exatamente a “capacidade antioxidante total” de uma amostra. Assim, atualmente preconiza-se a utilização de duas ou mais técnicas para determinar a atividade antioxidante, particularmente em matrizes complexas, com as frutas e extrato vegetais. (NEGRI; POSSAMAI; NAKASHIMA, 2009; SUCUPIRA et al., 2015). Assim, a atividade antioxidante também foi avaliada através do ensaio do complexo fosfomolibdênio.

O método de redução pelo complexo fosfomolibdênio, avalia a capacidade antioxidante total de uma mistura complexa de compostos, tanto de componentes lipofílicos quanto de hidrofílicos. O reagente possui coloração amarela, tornando-se verde à medida que se reduz (PRIETO; PINEDA; AGUILAR, 1999). Apresenta-se como um método simples e de baixo custo.

O extrato antocianínico mostrou diferentes níveis de atividade de captura de radicais de DPPH na faixa de concentrações entre 0-10 mg mL^{-1}. Para concentrações mais elevadas, a atividade de eliminação de radicais de DPPH não variou muito, com a atividade de eliminação de radicais do extrato de antocianina apresentando um aumento hiperbólico com concentrações crescentes do extrato, até um valor próximo de cerca de 90%, como pode ser observado na Figura 7.

Ao testar a atividade antioxidante total do extrato de antocianina através do complexo de fosfato de molibdênio observou-se que a atividade antioxidante total também mostrou um aumento hiperbólico com o aumento das concentrações de massa do extrato (na mesma faixa de concentrações de 0-10 mg mL^{-1}) (Figura 7, curva roxa, eixo YY direito), embora em menor proporção quando comparado com a atividade de eliminação de radicais testada através do método DPPH.

Figura 7. Atividade antioxidante por DPPH do extrato de antocianina (curva verde, eixo YY esquerdo) e atividade antioxidante pelo complexo fosfomolibdênio (curva roxa), em função de diferentes concentrações de massa do extrato de antocianina (n = 3).



Resultados e discussão Fonte: Elaboração própria

Pelos resultados apresentados, pode-se afirmar que o extrato de antocianina apresentou boa capacidade antioxidante. Estes resultados são comparáveis e estão em estreita concordância com os resultados publicados por Kumar, Sandhir e Ojha (2014), Lima et al. (2011) e Almulaiky et al. (2017).

Os resultados obtidos sugerem que o extrato antocianínico produzido é capaz de eliminar os radicais livres (embora em diferentes extensões) e impedir o início da propagação de radicais livres, estabilizando-os de modo a impedir sua participação em reações deletérias.

4 I DETERMINAÇÃO DO CONTEÚDO FENÓLICO TOTAL NO EXTRATO DE ANTOCIANINA

Utilizando a curva de calibração produzida para o conteúdo fenólico expresso como equivalentes de ácido gálico (GAE) (Abs765nm = 0,0011 x [GAE, mg mL^{-1}] + 0,0065; R^2 = 0,99402), o teor fenólico total das amostras de extrato de antocianina (n = 3) foi determinado como igual a 1,958 ± 0,070 mg GAE /g de extrato de antocianina.

Os resultados obtidos para o conteúdo fenólico foram de uma ordem de magnitude inferior aos resultados obtidos por Borges et al. (2011). No trabalho destes pesquisadores foram avaliados frutos de cinco regiões diferentes do estado de Santa Catarina, Brasil. Em uma destas regiões, de clima quente e úmido, os frutos apresentaram conteúdo de

compostos fenólicos na ordem de 2610,86 ± 3,89 mg 100 g^{-1} (GAE). No entanto, como já foi dito, o estágio de amadurecimento combinado com a incidência de radiação solar na palmeira Jussara tem uma grande influência nos teores de antocianinas e flavonóides em geral. Vários autores relataram (BORGES et al., 2011; TOMÁS-BARBERAN; ESPÍN, 2001), que os compostos fenólicos são metabolizados em resposta à intensa radiação solar, também atuando como mecanismo de defesa contra insetos herbívoros e proteção contra as radiações UVA e UVB. Portanto, as inter-variações das frutas são devidas à via de formação destes compostos, uma vez que a sua presença difere em cada fruta.

5 I ATIVIDADE ANTIMICROBIANA DO EXTRATO DE ANTOCIANINA PELO TESTE DE DISCO-DIFUSÃO

Diversas pesquisas têm sido realizadas tendo como foco avaliar efeitos benéficos conferidos por diversos compostos fitoquímicos para a saúde humana. Contudo, poucos trabalhos têm sido direcionados para a avaliação da atividade antimicrobiana destes compostos. Alguns estudos apontam para a capacidade antimicrobiana das antocianinas, sem, no entanto, estabelecerem o mecanismo de ação. Sugere-se que propriedades antimicrobianas observadas em algumas espécies vegetais contendo antocianinas ocorram por mecanismos sinérgicos em função da presença também de outros compostos fenólicos, ácidos orgânicos, entre outros (CISOWAK; DORATA; HENDRICH, 2011).

Nesta pesquisa escolheu-se o teste de disco-difusão para a determinação da atividade antimicrobiana do extrato, uma vez que, é um método comumente utilizado na determinação da sensibilidade de microrganismos frente a diferentes substâncias. Apresenta-se como um método de fácil execução, com padronização estabelecida, não exige equipamentos especiais e, ainda permite fácil interpretação dos resultados obtidos (BALOUIRI et al., 2016; JORGENSEN; FERRARO, 2009).

Neste tipo de ensaio um microrganismo padrão é desafiado contra uma substância biologicamente ativa em meio de cultura sólido, relacionando-se o tamanho da zona de inibição de crescimento com a concentração da substância avaliada (OSTROSKY et al., 2008). Os resultados do teste disco-difusão são qualitativos, em relação à suscetibilidade bacteriana, não permitindo a quantificação do agente antimicrobiano que se difunde para o meio (BALOUIRI et al., 2016; JORGENSEN; FERRARO, 2009).

Pode-se notar pela inspeção da Figura 8, ligeira capacidade antimicrobiana do extrato de antocianina contra *Staphylococcus aureus* (Figura 8b, quadrante 3), sem, contudo, poder-se afirmar que o agente biológico apresentou sensibilidade ao extrato. Porém, o extrato de antocianina não exerceu qualquer efeito antimicrobiano contra *Escherichia coli* (Figura 8a, quadrante 3) ou *Pseudomonas aeruginosa* (Figura 8c, quadrante 3).

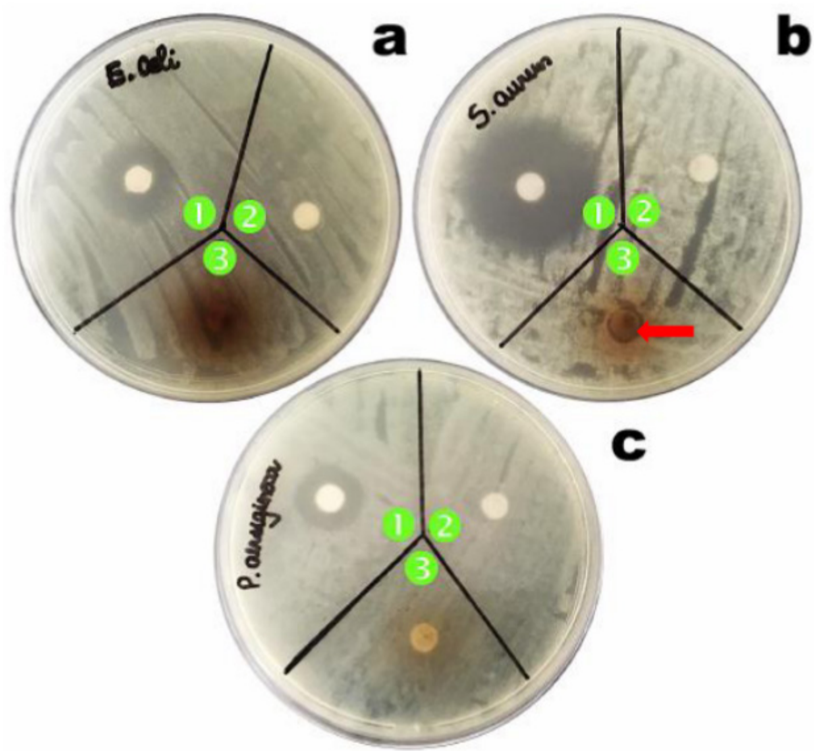


Figura 8. Ensaios de atividade antimicrobiana do extrato de antocianina frente a *Escherichia coli* (a), *Staphylococcus aureus* (b) e *Pseudomonas aeruginosa* (c). Quadrante 1 - padrão positivo (penicilina (10000 UI / mL) / estreptomicina (10 mg / mL)); Quadrante 2 - padrão negativo (água estéril ultrapura); Quadrante 3 – amostra (solução de extrato antocianínico).

Fonte: Elaboração própria

6 I CROMATOGRÁFICA EM CAMADA DELGADA DO EXTRATO ANTOCIANÍNICO: FITOQUÍMICOS E AÇÚCARES

A cromatografia em camada delgada consiste na separação dos componentes de uma mistura através da migração diferencial sobre uma fina camada de adsorvente retido sobre uma superfície plana, fundamentada no fenômeno da adsorção (COLLINS; BRAGA; BONATO, 2006). Esta técnica pode ser útil na avaliação inicial qualitativa de compostos fitoquímicos presentes em espécies vegetais.

Os resultados das análises cromatográficas em camada delgada, visando verificar a presença de alguns fitoquímicos e açúcares no extrato de antocianina, foram exibidos nas Figuras 9a e 9b, respectivamente. Os valores de Rf estão disponibilizados nas Tabelas 3 e 4.

Os fitoquímicos escolhidos para este *screening* foram rutina e quercetina, uma vez que, há indicação, em literatura, de maior presença destes compostos (SCHULZ et a., 2015). No entanto, a presença e a concentração destes compostos é afetada fortemente

pelo grau de amadurecimento da fruta, entre outros fatores (BORGES et al., 2011). Observou-se quatro frações de pigmento formadas no cromatograma a partir do extrato de antocianina (Figura 9a, corrida 4), entretanto sem clara comprovação da presença de rutina ou quercetina em função dos Rfs observados (Tabela 3). Isso sugere a existência de quatro pigmentos no extrato. Vale lembrar que os frutos utilizados para produzir os extratos estavam nos estágios iniciais do amadurecimento, o que pode propiciar a presença de outros pigmentos como a clorofila. Corroborando com esta possibilidade, vestígios de clorofila foram detectados na análise FTIR do extrato.

Em relação a presença de açúcares, observou-se a provável presença de glicose e sacarose como mostrado na Figura 9 b, e de acordo com valores de Rfs observados no cromatograma (Tabela 4). Os açúcares comuns em frutas são sacarose glicose e frutose, sendo a presença destes compostos significativa somente no amadurecimento, quando o conteúdo de ácidos orgânicos diminui e o de açúcares aumenta (CORTÊS et al., 2016). O cromatograma obtido não evidenciou de modo inequívoco a presença destes compostos (glicose e sacarose), provavelmente, por se tratar de um extrato bruto, que pode mascarar o resultado e também pelo extrato ter sido obtido de frutas pouco maduras.

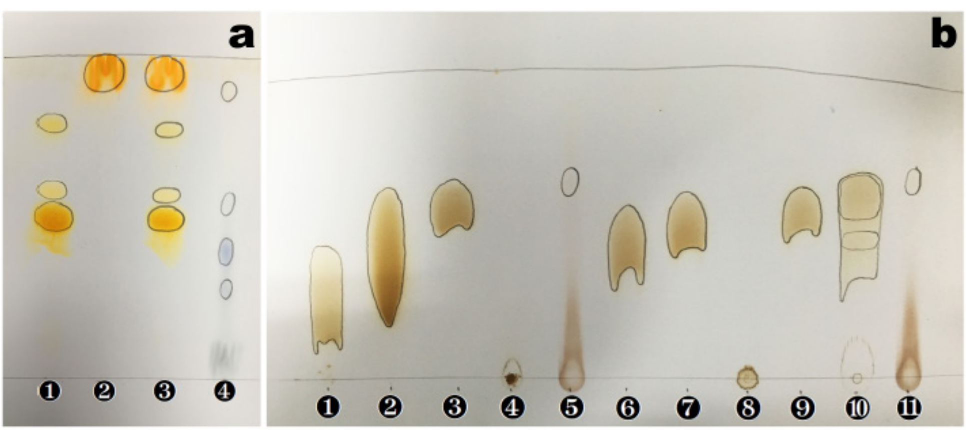


Figura 9. Fotos de cromatogramas em camada delgada. **a)** fitoquímicos: 1-rutina (quercetina-3-O-rutinosídeo); 2- quercetina; 3 -mistura de rutina e quercetina; 4- extrato de antocianina. **b)** açúcares: 1- lactose; 2- frutose; 3- glicose; 4- amido; 5- extrato de antocianina (concentração 100 mg mL^{-1}); 6- maltose; 7- galactose; 8-goma arábica; 9-sacarose; 10- mistura de açúcares 1,2,3,4,6,7,8,9; 11-extrato de antocianina (concentração 100 mg mL^{-1}).

Fonte: Elaboração própria

Corrida	Fitoquímicos	Valores de Rf
1	Rutina	0,495 / 0,581 / 0,790
2	Quercetina	0,943
3	Rutina + Quercetina	0,495 / 0,571/ 0,771 / 0,943
4	Extrato da antocianina	0,276 / 0,390 / 0,543 / 0,895

Tabela 3. Fator de retenção (Rf) dos fitoquímicos, rutina e extrato de antocianina obtidos em cromatofolha, tendo como fase móvel acetato de etila (100 mL); ácido fórmico (11 mL); ácido acético glacial (11mL) e água (27 mL) e revelador NP/PEG 4000.

Fonte: Elaboração própria

Corrida	**Açúcar**	**Valor de Rf**
1	Lactose	0,276
2	Frutose	0,400
3	Glicose	0,560
4	Goma	---
5	Extrato antocianínico	0,634
6	Maltose	0,430
7	Galactose	0,495
8	Goma arábica	---
9	Sacarose	0,540
10	Mistura de todos os açúcares	0,449/ 0,602
11	Extrato antocianínico	0,674

Tabela 4. Fator de retenção (Rf) dos açúcares e do extrato obtidos em cromatofolha, tendo como fase móvel 1-propanolol (40 mL); acetato de etila (5 mL) e água (5 mL) e aquecimento (110°C) como revelador

Fonte: Elaboração própria

7 I ESPECTROFOTOMETRIA UV-VIS DO EXTRATO ANTOCIANÍNICO

As antocianinas diferem de outros flavonóides naturais pelo alcance de cores derivadas e por sua capacidade de formar estruturas de ressonância através de variação de pH do meio (QIN et al., 2010). De modo geral, em meio extremamente ácido (pH entre 1-2), as antocianinas apresentam coloração intensamente avermelhada devido ao predomínio da forma cátion flavílium. Com o aumento do pH (pH próximo de 6,0) as antocianinas perdem a cor, pela predominância da espécie pseudobase carbinol, como já citado. Em

valores acima de pH 6,0, ocorre ruptura do anel heterocíclico, formando-se a espécie cis-chalcona, com coloração amarelada (MARÇO; POPPI; SCARMINIO, 2008; FIGUEIREDO et al., 2008). Assim, avaliar o comportamento do extrato em diferentes pH é um modo de caraterização das antocianinas. Os espectros de absorção de UV-Vis do extrato de antocianina são apresentados na Figura 10.

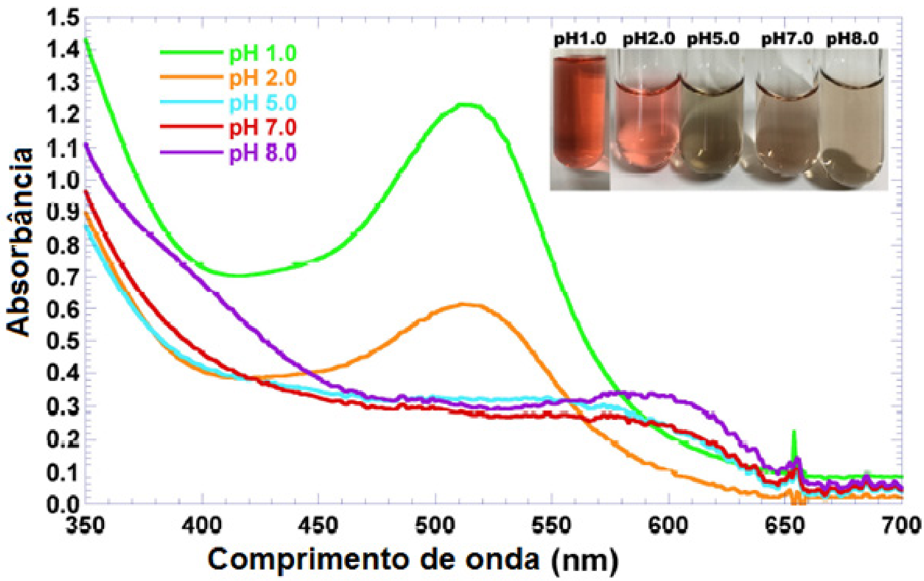


Figura 10. Características espectrais UV-Vis das antocianinas de Jussara nas soluções tampão de extrato antocianínico em valores de pH 1,0; 2,0; 5,0; 7,0 e 8,0.

Fonte: Elaboração própria

Os espectros de UV-Vis mostram a dependência de antocianina em relação ao pH. Em pH de 1,0, devido à carga positiva no anel interno, as antocianinas absorvem fortemente a luz entre 460 nm e 550 nm e têm um máximo de absorção em cerca de 520 nm (QIN et al., 2010). Assim, em pHs ácidos, as antocianinas são coloridas (veja a imagem inserida na Figura 10). No entanto, em valores de pH de 5 ou superior, devido à perda da carga positiva no anel interno, as antocianinas não absorvem a luz na faixa visível do espectro, sendo incolores. As cores observadas nas soluções em pH acima de 5,0 são resultados do tipo de amostra analisada. As soluções foram preparadas a partir de um extrato impuro de antocianinas as quais foram oriundas do fruto da Jussara e não de antocianinas puras.

8 | ESPECTROFOTOMETRIA POR INFRAVERMELHO COM TRANSFORMADA DE FOURIER (FTIR)

As análises espectrofotométricas (FTIR) permitem identificar grupos funcionais, uma vez que cada grupo funcional absorve a radiação em uma frequência característica do espectro infravermelho (SKOOG: HOLLER; CROUCH, 2007). O espectro infravermelho do extrato de antocianina dos frutos de Jussara é exibido na Figura 11.

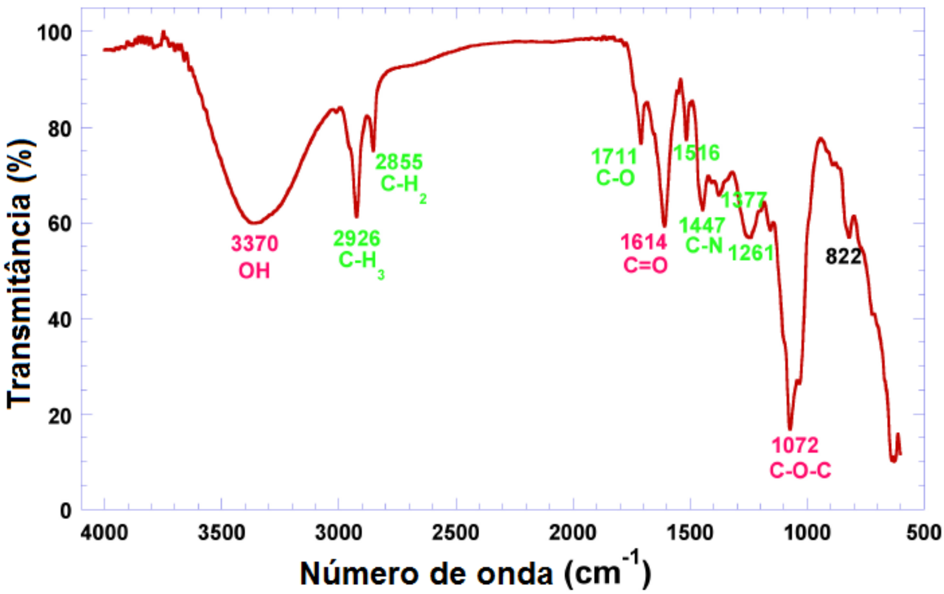


Figura 11. Espectro de infravermelho com Transformada de Fourier do extrato antocianínico produzido a partir de frutos de Jussara.

Fonte: Elaboração própria

O extrato apresentou bandas de absorção pertencentes à vibração de estiramento de OH (3370 cm^{-1}) e grupos de hidrocarbonetos saturados (2926 cm^{-1}, correspondentes a um grupo metila e 2855 cm^{-1}, correspondendo a um grupo metileno). As bandas entre 1711 cm^{-1} e 1072 cm^{-1} pertencem à vibração de estiramento de C-O e vibração de flexão (deformação angular) de grupos C-O-C. Outras bandas podem ser atribuídas à vibração de alongamento do grupo C = O (1614 cm^{-1}). Esses dados espectrais indicam que o alquilo de cadeia longa (bandas fortes ao redor de 2926 cm^{-1} e 2855 cm^{-1}) está presente no extrato. As bandas de absorção podem ser atribuídas à vibração de estiramento de OH (3370 cm^{-1}) e grupos de hidrocarbonetos saturados (2926 cm^{-1}, 2855 cm^{-1}), vibração de estiramento de CO e vibração de flexão de grupos COC (1711 cm^{-1}, 1072 cm^{-1}), estimulando a vibração de grupos C=O (1614 cm^{-1}) (VASINCU et al., 2014). A vibração de flexão do metil / metileno correspondente a bandas em 2926-2855 cm^{-1} também estão presentes. Além disso, foram

visíveis bandas correspondentes à vibração dos anéis aromáticos e de grupo C-O-C comuns em flavonóides (1072 cm^{-1}, 1516 cm^{-1}, 1447 cm^{-1}, 1261 cm^{-1}1411) (SYAFINAR et al., 2015; ADIB et al., 2014). As bandas correspondentes ao alongamento da vibração de C-O e vibração de flexão de grupos C-O-C (1711 cm^{-1} e 1072 cm^{-1}, respectivamente) indicam a presença de carboidratos (VASINCU et al., 2014). As bandas a 1447 cm^{-1} e 1614 cm^{-1} também podem ser atribuídas à vibração C-N e ao alongamento C = O. Esses dados espectrais são consistentes com o conteúdo de extratos de antocianina relativo a carboidratos (por exemplo, polissacarídeos). A partir da inspeção dos espectros de transmissão descritos na Figura 11 pode-se observar ainda um pico em aproximadamente 1614 cm^{-1} devido ao estiramento do grupo carbonila (C = O) e um pico na região de 1447 cm^{-1} devido ao trecho de ligação C-N, ligações comuns em polipeptídeos e proteínas. Também foram identificados picos característicos indicativos da presença de clorofila, provavelmente devido ao estágio de imaturidade dos frutos utilizados para a preparação do extrato impuro de antocianina. Conforme observado nos grupos funcionais da clorofila extraídos em conjunto com as antocianinas, são observadas vibração $C\text{-}H_3$ e vibração $C\text{-}H_2$ em 2926 cm^{-1} e 2855 cm^{-1}, respectivamente. Além disso, também são notadas vibrações de C = O em 1711cm^{-1}, vibração C-O em 1072 cm^{-1} e vibração C-N de porfirinas em 1447 cm^{-1}. Conforme observado nos grupos funcionais de antocianina, ligação H entre moléculas a 3370 cm^{-1}, C = O alongamento em vibração a 1614 cm^{-1} a partir de um grupamento CO_2H, possivelmente pertencente a um anel de benzeno e a vibração de alongamento de ésteres de C-O-C em 1072 cm^{-1} também são características observadas (CHANG et al., 2013). O pico a 1516 cm^{-1}, provavelmente também pertencente a um anel benzeno (MUCHOUWETI; CHIKWAMBI, 2008). Várias bandas de absorção foram identificadas, incluindo aquelas dentro da região entre 800-1750 cm^{-1} que são classificados como alongamentos do anel aromático C = C, enquanto que as bandas de infravermelho na área de 820 cm^{-1} a 760 cm^{-1} podem ser atribuídas a vibrações do anel aromático (AGATONOVIC-KUSTRIN; MORTON; YUSOF, 2013). As regiões de infravermelho entre 1542 cm^{-1} a 965 cm^{-1} são geralmente referidas como a região de “impressão digital”, e várias bandas infravermelho, incluindo as que correspondem à vibração das ligações CO, CC, CH e CN, ocorrem nesta região (AGATONOVIC-KUSTRIN et al., 2013). Esta área fornece informações importantes sobre compostos orgânicos como açúcares, álcoois e ácidos orgânicos presentes no extrato. A absorbância distinta no pico na região do número de onda 3370 cm^{-1} é o resultado da absorbância de água (AGATONOVIC-KUSTRIN et al., 2013). A banda de absorção 1377 cm^{-1} pode ser atribuída ao grupamento O-H em deformação plana em polifenóis (OZACAR; SOYKAN; SENGIL, 2006). A vibração de deformação das ligações C-C nos grupos fenólicos adsorventes na região de 1500-1400 cm^{-1} (NAKANO; TAKESHITA; TSUTSUMI, 2001). As bandas de absorção de infravermelho devido à presença de grupos funcionais de açúcar estão dentro da gama entre 1200 cm^{-1} e 950 cm^{-1}, mais especificamente os picos observados a 1261 cm^{-1},1072 cm^{-1}. A vibração do estiramento do grupo C = O é

de cerca de 1711 cm^{-1}. Os picos a 1614 cm^{-1} e 1377 cm^{-1} correspondem a vibração de estiramento simétrica e assimétrica para o íon carboxílico (COO^-) indicando a existência de grupos ácido carboxílico, éster ou carbonila (AGATONOVIC-KUSTRIN et al., 2013). Os picos localizados na região de 1500 cm^{-1} podem ser atribuídos ao alongamento C-C em anéis aromáticos (AGATONOVIC-KUSTRIN et al., 2013).

De modo geral, as bandas observadas também apresentam valores coincidentes com as observadas por Horst, Parize e Souza (2009), em análise de infravermelho de corante antocianina.

9 I DIFRAÇÃO DE RAIOS-X

Os resultados obtidos a partir das análises de difração de raios-X (XRD) realizados no extrato antocianínico produzido estão apresentados na Figura 12 na forma de um difratograma normalizado e permitem observar um comportamento amorfo generalizado. Embora possam ser observados quatro picos (2θ = 21 °, 24 °, 28,5 ° e 40,5 °) que podem estar associados a alguma fase cristalina esta, encontra-se em baixa concentração, uma vez que a intensidade dos picos é baixa. O amplo espectro de difração (2θ = 5 °- 50 °) observado no espectro do extrato antocianínico mostra o domínio do material amorfo no extrato antocianínico.

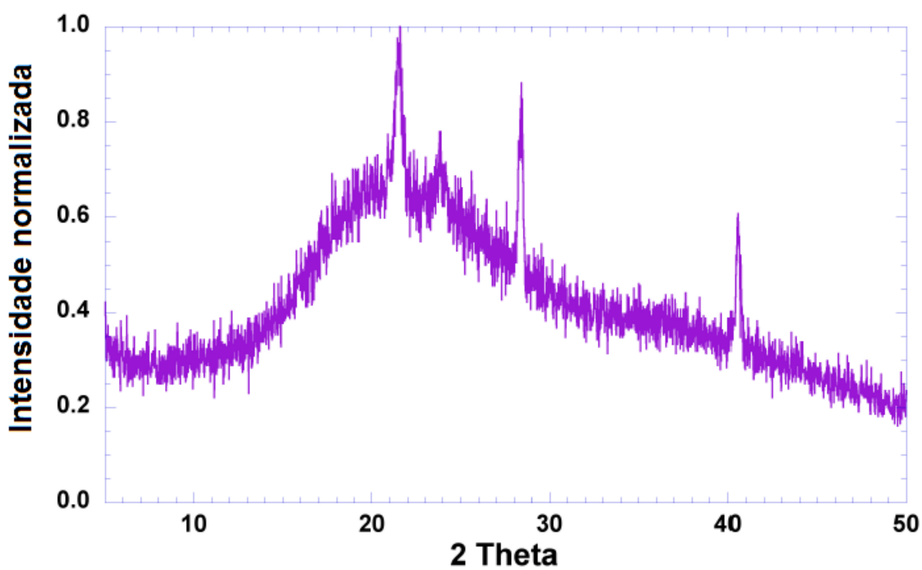


Figura 12. Difratograma de raios-X do extrato antocianínico.

Fonte: Elaboração própria

10 I CALORIMETRIA DIFERENCIAL DE VARREDURA (DSC)

Os resultados das análises de DSC realizadas com o extrato antocianínico foram exibidos na Figura 13. O pico endotérmico superficial observado a 53,25 °C pode ser considerado como a transição de primeira ordem comumente observada em uma ampla classe de biopolímeros hidratados. Por analogia com o trabalho de Dandurand e colaboradores (2014), este evento endotérmico é atribuível à evaporação de moléculas de água ligadas. O segundo evento endotérmico foi relativo ao pico notado em 107,14 °C (com entalpia de fusão associada em -228,05 mJ / mg), o que está de acordo com os resultados publicados por Santos et al. (2013) para um extrato de antocianina de cascas de jabuticabas. O terceiro evento endotérmico foi um pequeno pico a 148,70 °C, associado aos fenômenos de degradação, que pode ser considerado como uma característica térmica da carbonização da amostra (LIMSITTHICHAIKOON et al., 2015).

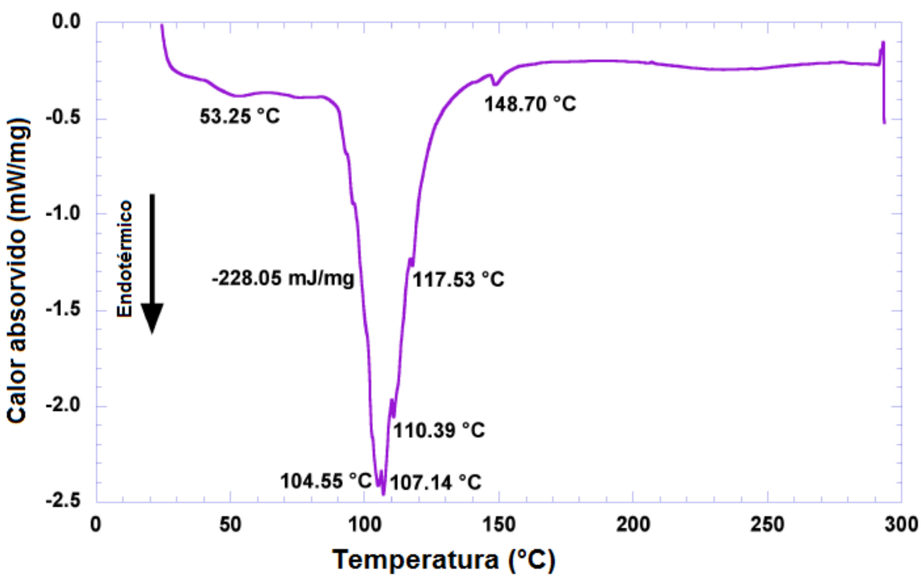


Figura 13. Termograma de calorimetria de varredura diferencial do extrato antocianínico

Fonte: Elaboração própria

11 I FLUORESCÊNCIA DE RAIOS-X (XRF)

A técnica de XRF pode fornecer resultados analíticos com uma precisão de algumas partes por milhão (µg/g) e pode ser usada para quantificar elementos químicos presentes em diferentes amostras, desde que tenham número atômico entre elemento magnésio (Z=12) até férmio (Z = 100) (VINADÉ; VINADÉ, 2005). Os resultados foram analisados de forma

qualitativa e quantitativa. Os principais elementos químicos encontrados são identificados na Figura 14 na forma de um espectro de fluorescência de raios-X e quantificados na Figura 15.

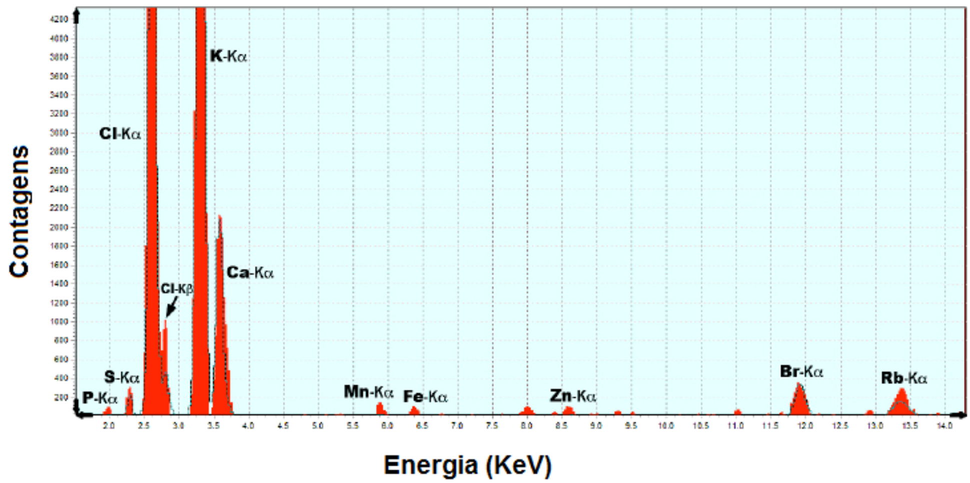


Figura 14. Espectro fluorescência de raios-X realizada no extrato antocianínico. O eixo YY representa o número de contagens de raios-X característicos que atingiram o detector, enquanto o eixo XX representa a energia dos raios-X característicos.

Fonte: Elaboração própria

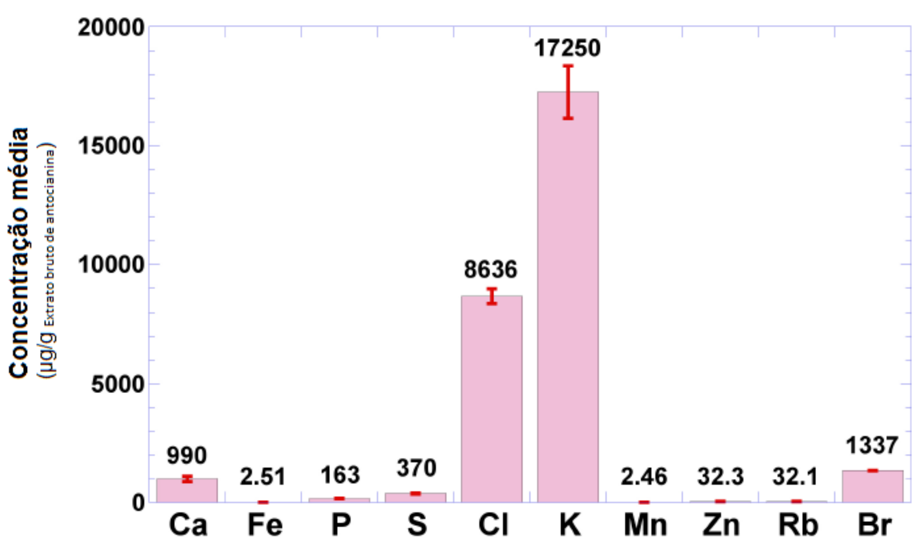


Figura 15. Composição elementar do extrato antocianínico por difração de raios-X.

Fonte: Elaboração própria

Os elementos cloro e o potássio foram encontrados em altas concentrações no extrato antocianínico, sendo 8636 µg / g extrato e 17250 µg / g extrato, respectivamente (Figura 15). O potássio é um dos elementos encontrado em frutas em maiores quantidades, sendo, portanto esperado. Ribeiro, Mendes e Pereira em análise de composição mineral de polpa de frutas de Jussara encontraram teores de potássio de 94,8 (± 11,2) mg/100g polpa, indicando alto teor deste elemento.

Outros elementos presentes no extrato antocianínico em microconcentrações foram ferro, fósforo, enxofre, manganésio, zinco e rubídio (Figuras 9 e 10). O conteúdo mineral no extrato de antocianina produzido foi semelhante ao relatado por Inada et al. (2015), em relação ao cálcio (1,55x maior no nosso extrato) e enxofre (1,38x maior em nosso extrato). Já para outros elementos houve divergência, como para o potássio (4,78x maior em extrato), manganês (11,38x menor em nosso extrato), zinco (5,38 x maior em nosso extrato), ferro (6,65x menor em nosso extrato) e fósforo (4,25x inferior em nosso extrato). No extrato antocianínico obtido neste trabalho, foram detectados cloro, bromo e rubídio, mas nenhuma correspondência foi encontrada com outros estudos publicados na literatura especializada utilizando extratos impuros de frutos da palmeira Jussara.

12 I MICROTOMOGRAFIA DE RAIOS-X (MCT)

A palmeira *Euterpe edulis* produz uma fruta redonda, também conhecida como Jussara, contendo uma semente marrom clara que responde a cerca de 90% do diâmetro do fruto (1 a 1,5 cm) e até 85% do seu peso (BICUDO; RIBANI: BETA, 2014).

As sementes da palmeira Jussara são cobertas com uma pele escura e brilhante. As antocianinas são encontradas na célula vacuolar, principalmente em flores e frutas, mas também podem ser encontradas em folhas, hastes e raízes. Nessas partes das plantas, elas são presentes predominantemente nas camadas celulares externas, como a epiderme e as células do mesófilo (FRANCIS, 1999; STAFFORD, 1994). A partir das análises tomográficas através da transmissão de raios-X realizadas para todo o fruto de Jussara (Figura 16), pode-se observar que a casca do fruto apresentou espessura de 701 ± 23,8 µm, sendo constituída por duas camadas concêntricas envolvendo uma câmara interna com uma espessura de 108 ± 66,9 µm. A fruta de Jussara analisada exibiu um diâmetro externo de 11566 ± 167,9 µm.

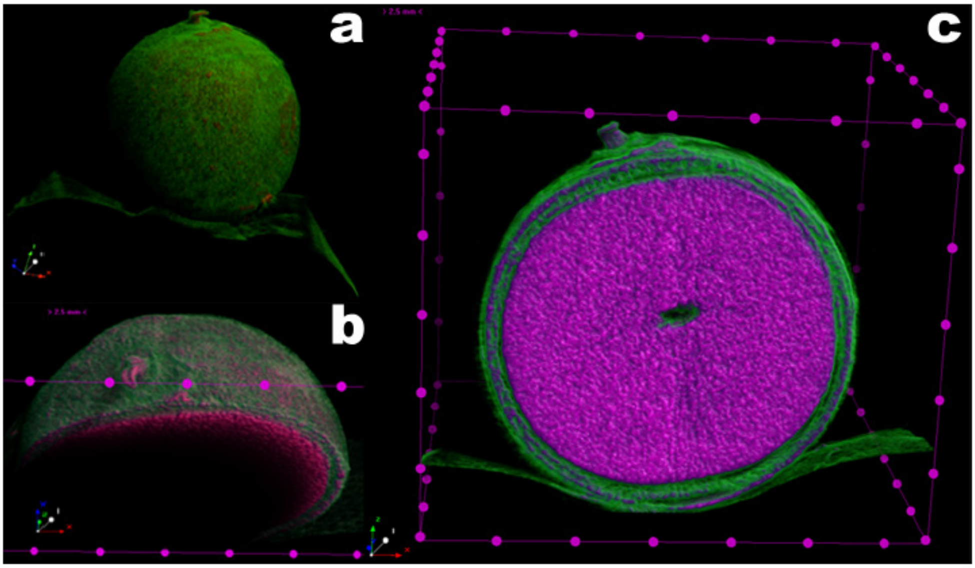
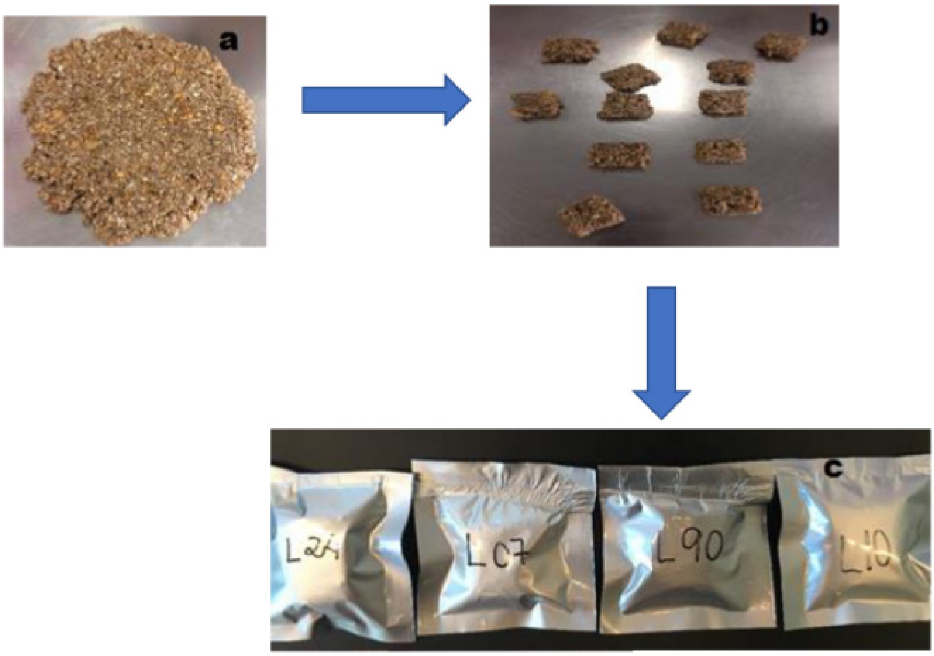


Figura 16. Imagens obtidas por análise tomográfica através da transmissão de raios X (μCT) feitas em fruto de Jussara, sendo (a) imagem do fruto inteiro, (b) imagem de perfil transversal da parede de um fruto e (c) imagem do fruto cortada digitalmente ao meio.

Fonte: Elaboração própria

13 I PREPARO DAS BARRAS DE CEREAIS

O processo de fabricação das barras de cereal envolveu, inicialmente, a mistura dos ingredientes secos, como aveia, farelo de arroz, ácido cítrico, coco e abacaxi desidratados. Depois foram adicionados os componentes aglutinantes formando uma massa compacta e na sequência, agregou-se diferentes porções de extrato de antocianina. Por fim, a massa foi cortada, embalada e identificada, como pode ser visualizado na Figura 17.



L10 = sem adição do extrato antocianinico; L24 = 0,25% (m/m) de extrato antocianinico; L07 = 1,0%(m/m) de extrato antocianinico; L90 =2,0% (m/m) de extrato antocianinico.

Figura 17. Fotografias da massa de cereal prensada (a), cortada (b) e embalada (c) durante o preparo das barras de cereais.

Fonte: Elaboração própria

O processo de obtenção das barras de cereais foi bastante simples e permitiu obter barras de cereais caseiras de adequada aparência, semelhantes às produzidas de modo industrializado. Isto foi um fator positivo que facilita a sua aceitação.

14 I ANÁLISE SENSORIAL

Os dados coletados foram provenientes da análise sensorial feita por 53 participantes. Cada participante da pesquisa experimentou e avaliou os quatro tipos de barras de cereais, denominadas de L10 (sem adição do extrato antocianínico); L24 (0,25% (m/m) de extrato antocianínico); L07 (1,0%(m/m) de extrato antocianínico) e L90 (2,0% (m/m) de extrato antocianínico). Desta forma, obteve-se um experimento em blocos casualizados completos com quatro tratamentos (L10, L24, L07 e L90) e 53 blocos (participantes).

Para cada um dos quatro tipos de barra, cada voluntário atribuiu uma nota para as características aparência, sabor, textura, aspecto global e intenção de compra. As notas poderiam variar de 1 a 5 para a intenção de compra, sendo 1 para “certamente eu não compraria” e 5 para “certamente eu compraria”. Para as demais características as notas poderiam variar de 1 a 9, sendo 1 “desgostei extremamente” e 9 “gostei extremamente”.

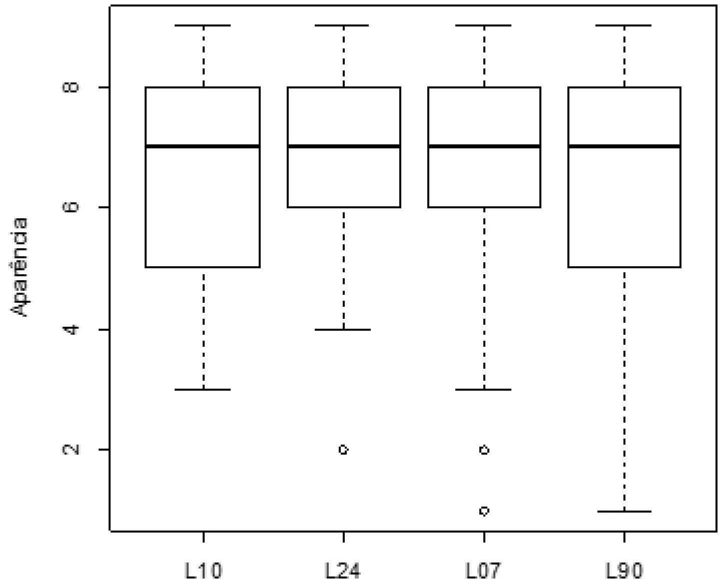
A análise estatística poderia ser feita usando a análise de variância (ANOVA) para experimentos em blocos casualizados. Porém, os dados foram coletados em uma escala ordinal, isto é, cada dado obtido não é efetivamente um número. Dessa forma, testes estatísticos mais adequados são os testes não paramétrico, como o teste de Friedman, selecionado para este trabalho. O teste Friedman permite decidir entre duas hipóteses, sendo "H0: não há diferença entre os tratamentos quanto a uma certa característica" e "H1: pelo menos dois tratamentos diferem entre si, quanto a uma certa característica" (CAMPOS, 1983; ZAAR, 2010).

Para decidir entre as hipóteses H0 e H1, fixou-se um nível de significância do teste (α) de 0,05, calculou-se a estatística X^2 do teste conforme apresentado em Zar (2010) e calculou-se também o *p*-valor. Se p-valor > α, rejeita-se H0, caso contrário se p-valor ≤ α não se rejeita H0. Neste caso não haveria evidências de diferenças entre os tratamentos quanto a característica em análise.

Também para a interpretação dos resultados empregou-se o gráfico *box-plot*. O *box-plot* é um recurso gráfico que exibe a tendência central não-paramétrica (mediana), dispersão (quartis 25% e 75%), forma de distribuição ou simetria da amostra (valores pontuais mínimo e máximo), valores atípicos (*outliers*) e extremos. A existência de *outliers* pode indicar dados incorretos ou que deveriam ser reavaliados (VALLADARES NETO et al., 2016).

14.1 Análise sensorial para aparência

Na análise de aparência pode-se concluir que não houve diferenças entre as quatro formulações de barras de cereais. A Figura 18, apresenta os gráficos *box-plot* dos dados da aparência em função das quatro formulações com diferentes concentrações de extrato antocianínico. A linha horizontal mais forte em cada *box-plot* representa a mediana. Nota-se que nos quatro gráficos as medianas estão na mesma altura, em torno de 7, isto é, 50% dos participantes deram nota ≥ 7 para a aparência do produto. A fim de se verificar o que foi observado na Figura 18, o teste de Friedman foi aplicado para testar se houve ou não diferenças entre as quatro concentrações de antocianina nas barras de cereais quanto ao parâmetro aparência.



L10 = sem adição do extrato antocianinico; L24 = 0,25% (m/m) de extrato antocianinico; L07 = 1,0%(m/m) de extrato antocianinico; L90 =2,0% (m/m) de extrato antocianinico.

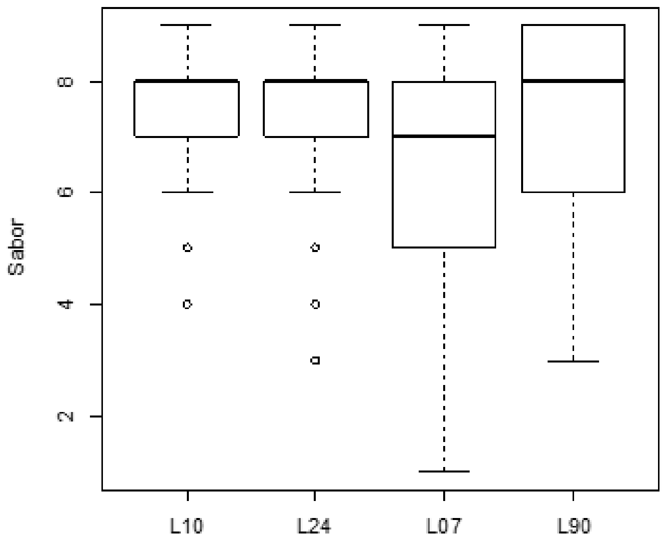
Fonte: Elaboração própria.

Figura 18. *Box-plot* relativo ao atributo aparência em função das diferentes de concentrações de extrato antocianínico adicionado às barras de cereais.

Os resultados obtidos para a estatística do teste de Friedman e o *p*-valor foram de X^2 =3,4 e *p*-valor= 0,3277, respectivamente para o atributo aparência. Como o *p*-valor obtido foi de 0,3277, sendo maior que 0,05, não rejeitou-se H0, ou seja, não houve evidências de diferenças entre as quatro formulações quanto à aparência das barras de cereais.

14.2 Análise sensorial para sabor

Em relação ao sabor a Figura 19, apresenta os gráficos *box-plot* dos dados referentes ao sabor em função das quatro formulações das barras de cereais contendo diferentes concentrações de extrato antocianínico. Observa-se que nos quatro gráficos as medianas estão aproximadamente na mesma altura, em torno de 8, com exceção da concentração L07 que possui mediana em torno de 7. A fim de se verificar o que foi observado na Figura 19, o teste de Friedman foi aplicado para testar se houve ou não diferenças entre as quatro concentrações de antocianina nas barras de cereais quanto ao quesito sabor.



L10 = sem adição do extrato antocianínico; L24 = 0,25% (m/m) de extrato antocianínico; L07 = 1,0%(m/m) de extrato antocianínico; L90 =2,0% (m/m) de extrato antocianínico.

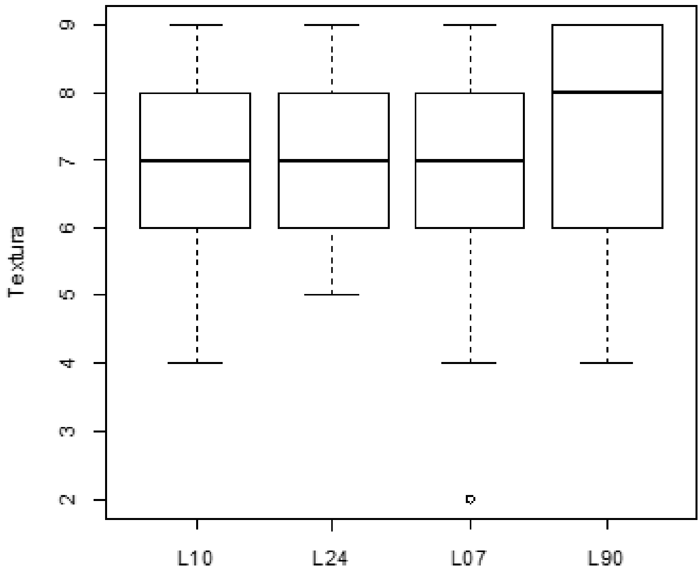
Figura 19. *Box-plot* do relativo ao atributo sabor em função das diferentes de concentrações de extrato antocianínico adicionado às barras de cereais.

Fonte: Elaboração própria

Os resultados obtidos para a estatística do teste de Friedman do parâmetro sabor e o *p*-valor foram respectivamente e X^2=9,21 *p*- valor = 0,026. Como o *p*-valor foi de 0,026 isto é, maior do que o nível de significância α=0,05, não rejeitou-se H0. Pode-se afirmar que não houve evidências de diferenças entre as quatro formulações de barras de cereais em relação ao sabor.

14.3 Análise sensorial para textura

Analisando a característica textura pode-se observar pela Figura 20, que mostra os gráficos *box-plot* dos resultados referentes a textura em função das quatro diferentes formulações de barras de cereais, que as medianas estão aproximadamente na mesma altura, em torno de 7, com exceção da formulação L90, que apresenta mediana em torno de 8. A fim de se verificar o que foi observado na Figura 20, o teste de Friedman foi aplicado para testar se houve ou não diferenças entre as quatro concentrações de antocianina nas barras de cereais quanto à textura.



L10 = sem adição do extrato antocianinico; L24 = 0,25% (m/m) de extrato antocianinico; L07 = 1,0%(m/m) de extrato antocianinico; L90 =2,0% (m/m) de extrato antocianinico.

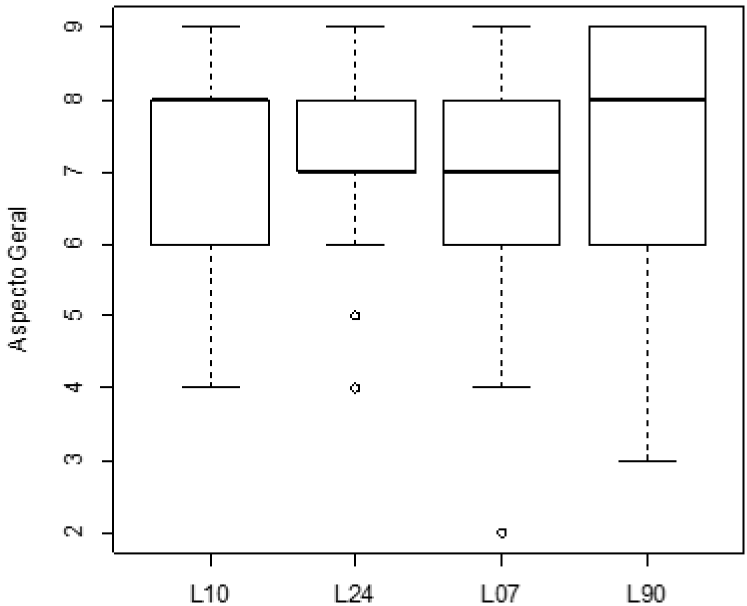
Figura 20. *Box-plot* relativo ao atributo textura em função das diferentes de concentrações de extrato antocianínico adicionado às barras de cereais.

Fonte: Elaboração própria

Os resultados obtidos para a estatística do teste de Friedman e o p-valor foram, X^2=6,6606 e *p*-valor = 0,08354, respectivamente. Como o *p*-valor foi de 0,08354, isto é, maior do que o nível de significância α=0,05, não rejeitou-se Ho. Assim, não houve evidências de diferenças entre as quatro formulações de barras de cereais quanto ao parâmetro textura.

14.4 Análise sensorial para aspecto global

Analisando o aspecto global, pode-se verificar pela Figura 21, a qual exibe os *box-plot* dos dados referentes ao aspecto global em função das quatro formulações das barras de cereais que as medianas estão aproximadamente na mesma altura, em torno de 7 para concentrações L24 e L07 e em torno de 8 para L10 e L90. A fim de se verificar o que foi observado na Figura 21, o teste de Friedman foi aplicado para testar se houve ou não diferenças entre as quatro concentrações de antocianina nas barras de cereais quanto ao aspecto global.



L10 = sem adição do extrato antocianínico; L24 = 0,25% (m/m) de extrato antocianínico; L07 = 1,0%(m/m) de extrato antocianínico; L90 =2,0% (m/m) de extrato antocianinico.

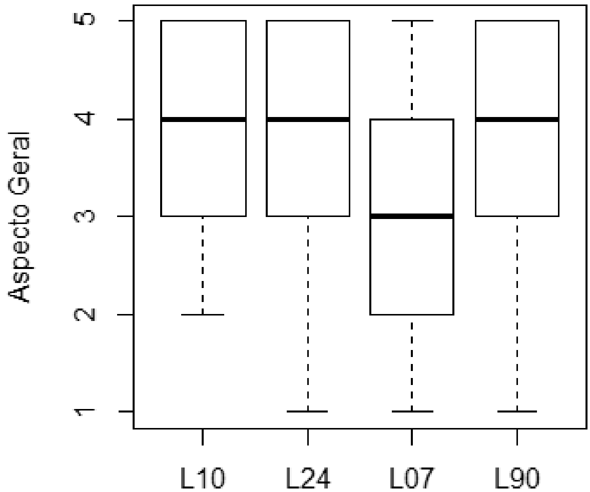
Figura 21. *Box-plot* relativo ao atributo aspecto global em função das diferentes de concentrações de extrato antocianínico adicionado às barras de cereais.

Fonte: Elaboração própria

Os resultados obtidos para a estatística do teste de Friedman e para *p*-valor foram X^2= 6,2956 o *p*-valor de 0,09808, respectivamente. Como o *p*-valor foi de 0,09808, isto é, maior do que o nível de significância α=0,05, não rejeitou-se H0. Estes valores indicaram que não houve evidências de diferenças entre as quatro formulações das barras de cereais quanto ao aspecto geral.

14.5 Análise sensorial para intenção de compra

Analisando a intenção de compra, pode-se observar pela Figura 22, que apresenta os gráficos *box-plot* dos dados de intenção de compra, em função dos quatro tipos de barras de cereais, nota-se que as concentrações apresentam medianas aproximadamente iguais (em torno de 4) com exceção da formulação L07 que apresenta mediana em torno de 3. A fim de se verificar o que foi observado na Figura 22, o teste de Friedman foi aplicado para testar se houve ou não diferenças entre as quatro concentrações de antocianina nas barras de cereais quanto a intenção de compra.



L10 = sem adição do extrato antocianinico; L24 = 0,25% (m/m) de extrato antocianinico; L07 = 1,0%(m/m) de extrato antocianinico; L90 =2,0% (m/m) de extrato antocianinico.

Figura 22. *Box-plot* relativo ao aspecto intenção de compra global em função das diferentes de concentrações de extrato antocianínico adicionado às barras de cereais.

Fonte: Elaboração própria

Os resultados obtidos para a estatística do teste Friedman e o *p*-valor foram X^2=7,9462 e *p*-valor = 0.04714, respectivamente. Como o *p*-valor foi de 0,047, isto é, menor do que o nível de significância α=0,05, então rejeitou-se H0. Este resultado indicou que houve evidências de diferenças entre pelo menos duas das quatro formulações de barras de cereais quanto a intenção de compra. Essa diferença é causada pela concentração L07 que apresentou mediana inferior às demais formulações. Em outras palavras, demonstrou-se menor intenção de compra da barra de cereal com a formulação L07, ou seja, com adição de 1,0% (m/m) de extrato antocianínico.

CONCLUSÃO

Os processos de maceração, filtração e evaporação do solvente extrativo utilizados para produção do extrato antocianínico permitiram a obtenção um produto com teor de antocianinas de 17,64 ± 1,13 mg/100 g fruta fresca e com boa capacidade antioxidante. Além disto, a caracterização físico-química permitiu concluir que o extrato continha compostos fenólicos que, provavelmente, contribuem para a atividade antioxidante do extrato, açúcares (glicose e sacarose) e diversos elementos minerais. Observou-se também ligeira capacidade antimicrobiana do extrato de antocianina contra *Staphylococcus aureus.* Neste sentido pode-se afirmar que o extrato antocianínico preparado pode ser utilizado como um ingrediente interessante para diversos tipos de alimentos em função das caraterísticas avaliadas

As análises estatísticas empregadas na avaliação das características organolépticas das barras de cereais permitiram concluir que as quatro formulações das barras de cereais não apresentaram diferenças significativas em nenhuma das características avaliadas (aparência, sabor, textura e aspecto global). Houve, no entanto, diferença significativa na intenção de compra, sendo a formulação L07 (com adição de 1,0%(m/m) de extrato antocianínico) a que apresentou menor intenção de compra enquanto que a intenção de compra para as demais formulações, foram similares. Assim, considerando os benefícios atribuídos as antocianinas, a formulação L90 com 2,0% (m/m) de extrato antocianínico adicionado seria a formulação mais adequada para sua produção e comercialização.

Pode-se concluir, pelos resultados obtidos nesta pesquisa, que a barra de cereal com adição de extrato antocianínico mostrou-se como uma opção viável para o uso do fruto da Jussara. A barra de cereal desenvolvida pode ser considerada um alimento com características funcionais e, além disto, permitiria o aproveitamento diferenciado de uma espécie vegetal nativa brasileira em vias de extinção.

REFERÊNCIAS

ADIB, A. M. et al. Two-dimensional correlation infrared spectroscopy applied to analyzing and identifying the extracts of *Baeckea frutescens* medicinal materials. **Journal Pharmaceutical and Biomedical Analysis**, v. 96, p. 104-110, 2014.

AGATONOVIC-KUSTRIN, S.; MORTON, D. W.; YUSOF, A. P. M. The use of Fourier Transform Infrared (FTIR) Spectroscopy and Artificial Neural Networks (ANNs) to assess wine quality. **Modern Chemistry and Applications**, v. 1, n. 4, p. 110-117, 2013.

ANVISA. Agencia Nacional de Vigilância Sanitária. **Alimentos Funcionais**. Disponível em: http://portal.anvisa.gov.br/resultado-de-busca?p_p_id=101&p_p_lifecycle=0&p_p_state=maximized&p_p_mode=view&p_p_col_id=column-1&p_p_col_count=1&_101_struts_action=%2Fasset_publisher%2Fview_content&_101_assetEntryId=2866855&_101_type=content&_101_groupId=219201&_101_urlTitle=alimentos-funcionais&inheritRedirect=true. Acesso em 17/07/2017).

APPLET. P. et al. Development and characterization of cereal bars made with flour of jabuticaba peel and okara. **Acta Scientiarum. Technology**, v. 37, n. 1, p. 117-122, 2015

AURELIO, D.L.; EDGARDO, R.G.; NAVARRO-GALINDO, S. Thermal kinetic degradation of anthocyanins in a roselle (Hibiscus sabdariffa L. cv. Criollo.) infusion. **International Journal of Food Science & Technology**, v, 43, p. 322-325, 2008.

ALMULAIKY, Y. Q. et al. Evaluation of the antioxidant potential and antioxidant enzymes of some Yemeni Grape Cultivars. **Free Radicals and Antioxidants** v.7, n.1, p. 74-79, 2017.

AOAC **Official Methods of Analysis of AOAC International**, 18th Edition, Maryland: AOAC International, Chapter 37, p 37-39, 2005.

BALESTRIN, L. et al. Contribuição ao estudo fitoquímico de *Dorstenia multiformis* Miquel (Moraceae) com abordagem em atividade antioxidante. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** v.18, n. 2, p. 230-235, 2008.

BALOUIRI, M. et al. Methods for in vitro evaluating antimicrobial activity: a review. **Journal of Pharmceutical Analysis** v. 6, n. 2, p. 71-70, 2016.

BARBOSA, L.M.V.; FREITAS, R.J.C.; WASZCZYNSKYJ, N. Desenvolvimento de produtos e análise sensorial. **Brasil Alimentos**, v. 18, p.34-35, 2003

BASHO, S. M.; BIN, M. C. Propriedades dos alimentos funcionais e seu papel na prevenção e controle da hipertensão e diabetes**. Interbio,** v.4 n.1,p. 48-58, 2010.

BAUER, A. W. et al. Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disk method, **American Journal Clinical Pathology**, v. 45, n.4, p. 493-496, 1966.

BEGHDAD, M. C. et al. Antioxidant activity, phenolic and flavonoid content in leaves, flowers, stems and seeds of mallow (*Malva sylvestris* L.) from north western of Algeria. **African Journal of Biotechnology**, v. 13, n. 3 p. 486-491, 2014.

BETORET, E.; BETORET, N.; VIDAL, D.; FITO, P. Functional foods development: trends and technologies. **Trends in Food Science & Technology,** v. 22, p 498-508, 2011.

BETZ, M.; KULOZIK, U. Whey protein gels for the entrapment of bioactive anthocyanins from bilberry extract. **International Dairy Journal,** v. 21, p. 703-710, 2011.

BICUDO, M.O.P. et al. Microencapsulation of Juçara (*Euterpe edulis* M.) pulp by drying using different carries and drying temperatures. **Drying Technology**, v. 33, p. 153-161, 2015.

BICUDO, M.O.P. **Composição fenólica, atividade antioxidante e microencapsulação de frutos de Juçara (*Euterpe edulis*): Aspectos de interesse para a indústria de alimentos.** Tese de Doutorado do Programa de Pós Graduação em Engenharia de Alimentos da Universidade Federal do Paraná, Paraná, 2014.

BICUDO, M.O.P.; RIBANI, R.H.; BETA, T. Anthocyanins, phenolic acids and antioxidant properties of Juçara fruits (*Euterpe edulis* M.) along the on0tree reping process. **Plant Foods Human Nutrition**, v. 69, p.142-147, 2014

BOO, H. et al. Extraction and characterization of some natural plants pigments. **Industrial Crops and Products,** v. 40, p. 129-135, 2012.

BORGES, G. S. C. et al. Chemical characterization, bioactive compounds, and antioxidant capacity of Jussara (*Euterpe edulis*) fruit from the Atlantic Forest in southern Brazil. **Food Research International**, v. 44, p. 2128–213, 2011.

BRADFORD, M. A. Rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. **Analytical Biochemistry**. v.72, p. 248-254, 1976.

BRAND-WILIAMS, W.; CUVELIER, M.; BERSET, C. Use of a free radical method to evaluate antioxidant activity. **Food Science and Technology**, v.28, p.25-30. 1995.

BRASIL, Ministério da Saúde, Secretaria de Vigilância Sanitária. Portaria nº 31, de 13 de janeiro de 1998. Aprova o Regulamento Técnico referente a Alimentos Adicionados de Nutrientes Essenciais, 1998.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência de Vigilância Sanitária. Resolução - RES nº 18 de 30 de abril de 1999. Diretrizes básicas para análise e comprovação de propriedades funcionais e ou de saúde alegadas em rotulagem de alimentos, 1999.

BRASIL, Ministério da Saúde, Agência de Vigilância Sanitária. Resolução de Diretoria Colegiada – RDC nº 344, de 13 de dezembro de 2002. Regulamento técnico para fortificação das farinhas de trigo e das farinhas de milho com ferro e ácido fólico, 2002.

BRASIL, Agência Nacional de Vigilância Sanitária (ANVISA). Resolução - RDC nº 216, de 15 de setembro de 2004. Regulamento Técnico de Boas Práticas para Serviços de Alimentação, 2004.

BURIN, V. M. et al. Anthocyanins: optimization of extraction from Cabernet Sauvignon grapes, microcapsulation and stability in soft drink. **International Journal of Food Science and Technology**, v.46, p.186–193, 2011.

CAMPOS, H. **Estatística experimental não-paramétrica**. 4. ed. Piracicaba: FEALQ, 1983, 349 p.

CAMPOS, J.S.; FRASSON, A.P.Z. Atividade antioxidante de *L. pacari.* **Revista de Ciências Farmacêuticas Básica e Aplicada,** v.32, n.3, p: 363-368, 2011.

CASTANEDA-OVANDO, A. et al. Chemical studies of anthocyanins: a review. **Food Chemistry** v.113, p: 859–871, 2009.

CARDOSO, A. L. et al. Acute consumption of Juçara juice *(Euterpe edulis*) and antioxidant activity in healthy individuals. **Journal of Functional Foods,** v. 17, p. 152-162, 2015.

CARVALHO, A.G.S. et al. Physical properties and morphology of spray dried microparticles containg anthocyanins of Jussara (*Euterpe edulis* Martius) extract. **Powder Technology,** v.294, p.421-428, 2016.

CAVALCANTI, R. N., SANTOS, D. T., MEIRELES, M. A. A. Non-thermal stabilization mechanisms of anthocyanins in model and food systems: an overview. **Food Research International,** v. 44, p.499–509, 2011.

CECCI, H.M. **Fundamentos teóricos e práticos em análise de alimentos**, 2 ed. Campinas: Editora Unicamp, 2003.

CELLI, G.B. et al. Development and evaluation of novel alginate-based *in situ* gelling system to modulate the release of anthocyanins **Food Hydrocolloids**, v. 60, p. 500-5008, 2016.

CENCIC, A.; CHINGWARU, W. The role of functional foods, nutraceuticals, and food supplements in intestinal health. **Nutrients**, v. 2, n.6, p 611-625, 2010.

CIENFUEGOS, F.; VAITSMAN, D. S. **Análise Instrumental**, Rio de janeiro: Editora Interciência, 2000.

CHANG, H. et al. Characterization of natural dye extracted from wormwood and purple cabbage for dye-sensitized solar cells. **International Journal of Photoenergy**, Article ID 159502, 8 pages, 2013.

CIPRIANO, P. A. **Antocianinas de açaí *(Euterpe oleracea Mart.*) e casca de jabuticaba (Myrciaria jabuticaba) na formulação de bebidas isotônicas.** Dissertação de mestrado. Universidade Federal de Viçosa, Viçosa, 2011.

CISOWAK, A.; DORATA; W.; HENDRICH, A. Anthocyanins as antimicrobial agents of natural plant origin. **Natural Product Communication**, v. 6, n. 1, p. 149-156, 2011.

CLSI **Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests**; Approved Standard—Eighth Edition. NCCLS document M2-A8 [ISBN 1-56238-485-6]. NCCLS, 940 West Valley Road, Suite 1400, Wayne, Pennsylvania 19087-1898 USA, 2003. Versão traduzida Disponível em: http://www.anvisa.gov.br/servicosaude/manuais/clsi/clsi_OPASM7_A6.pdf. Acesso: 18/03/2016.

CNCFLORA. Centro Nacional de Conservação da Flora, 2012. *Euterpe edulis* Mart. Informações da avaliação de risco de extinção, 2012. Disponível em: http://cncflora.jbrj.gov.br/portal/pt-br/profile/Euterpe%20edulis. Acesso: 14/07/2017.

COLLINS, C.H.; BRAGA, G.L.; BONATO, P.S. **Fundamentos de cromatografia**. Campinas: Editora Unicamp, 2006.

COLUSSI, R. et al. Aceitabilidade e estabilidade físico-química de barras de cereais elaboradas à base de aveia e linhaça dourada. **Brazil Journal of Food Technology** Campinas, v. 16, n. 4, p. 292-300, 2013.

CORADIN, L.; SIMINSKI, A.; REIS, A. **Espécies nativas da flora brasileira de valor econômico atual ou potencial: plantas para o futuro – Região Sul.** Instituto do Meio Ambiente e dos Recursos Naturais Renováveis, Brasília, 2011. Disponível em: http://www.mma.gov.br/estruturas/sbf2008_dcbio/_ebooks/regiao_sul/Regiao_Sul.pdf Acesso em: 10/07/2017.

CÔRTES, S.L et al. Teor de açucares em oito diferentes tipos de frutas. **56° Congresso Brasileiro de Química,** novembro de 2016, Belém, Pará. Disponível em: http://www.abq.org.br/cbq/2016/trabalhos/9/9416-22944.html. Acesso em 28/10/2017.

COSTA, K. N. et al. Validação farmacológica de fitoquímicos comerciais sob o parâmetro da junção neuromuscular (JNM) e do perfil cromatográfico. In: **14º Encontro de Pesquisadores e Iniciação Científica e 9º Encontro de Extensão**, 2011, Sorocaba. Caderno de Resumos. Sorocaba: Editora Uniso, 2011, p. 54-54.

COSTA, E.A.D. et al. Produção de polpa e sementes de palmeia Juçara: alternativa de renda para a Mata Atlântica. **Revista Tecnologia & Inovação Agropecuária**, p. 60-66, 2008

COZZOLINO, S. Nutracêuticos: o que Significa? **Revista Abezzo**, v. 55, p. 5-7, 2012.

CRISTO, T.W. et al. Barra de cereais com adição de farinha de casca de chuchu: caracterização físico-química e sensorial entre crianças. **Semina: Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 36, n. 2, p. 85-96, 2015.

CUNHA JUNIOR, L.C. et al. Quality evaluation of intact açaí and juçara fruit by means of near infrared spectroscopy. **Postharvest Biology and Tecnology**, v. 112, p.64-74, 2016.

DAI, J.; MUMPER, R.J. Plant phenolics: extraction, analysis and their antioxidant and anticancer properties. **Molecules,** v.15, p.7313-7352, 2010.

DANDURAND, J. et al. Conformational and thermal characterization of a synthetic peptidic fragment inspired from human tropoelastin: Signature of the amyloid fibers, **Pathologie Biologie**, v. 62, n.2, p. 100-107, 2014.

DOMODARAN, S.; PARKIN, K.; FENNEMA, O.R. **Química de Alimentos de Fennema**. Porto Alegre: Artmed, 2010

DORMAN, H. J. et al. Antioxidant properties and composition of aqueous extracts from Mentha species, hybrids, varieties and cultivars, **Journal of Agric. Food Chemistry**, v. 51, p. 4563-4569, 2003.

DUARTE-ALMEIDA, J.M. et al., Avaliação da atividade antioxidante utilizando sistema β-caroteno/ácido linoléico e método de seqüestro de radicais DPPH. **Ciências Tecnologia de Alimentos,** v. 26, n. 2, p 446-452, 2006.

ERSUS, S., YURDAGEL, U. Microencapsulation of anthocyanin pigments of black carrot (Daucuscarota L.) by spray drier. **Journal of Food Engineering** v.80, p: 805-812, 2007.

FANG, J. Classification of fruits based on anthocyanin and relevance to their health effects. **Nutrition**, v.31, p. 1301-1306, 2015.

FABER, M. A.; YUYAMA, L.K.O. Functional dietary cereal bar based an Amazon Fruits**. Journal of Food Science and Nutrition**, v. 5, n. 2, p 2-6, 2015.

FAVARO, M.M.A. **Extração, estabilidade e quantificação de antocianinas de frutas típicas brasileiras para aplicação industrial em corantes.** Dissertação de Mestrado, Instituto de Química, Universidade Estadual de Campinas, Campinas, 2008.

FIGUEIREDO, M. J. M. et al. Metodologia para obtenção de antocianinas de frutos de Juçara (*Euterpe edulis*). **Comunicado Técnico 209, Embrapa**, p.1-5, 2008.

FRANCIS, F. J. **Colorants**. Egan Press. ISBN 1-891127-00-4, 1999.

FNDE, FUNDO NACIONAL DE DESENVOLVIMENTO DA EDUCAÇÃO. **Manual para aplicação dos testes de aceitabilidade no PNAE**, Cecane, Unifesp, 2010. Disponível em: <http://www.fnde.gov.br/index.php/ae-alimentacao-e-nutricao>. Acesso em 14/05/2017.

GARCIA-MENDOZA, M.P. et al. Extraction of phenolic compounds and anthocyanins from juçara (*Euterpe edulis* Mart.) residues using pressurized liquids and supercritical fluids. **The Journal of Supercritical Fluids** v. 119, p. 9-16, 2017.

GEOCZE, A.C. **Influência da preparação do licor de jabuticaba (*Myciaria jabuticaba v*ell Berg) no teor de compostos fenólicos.** Dissertação (Mestrado em Ciência de Alimentos) Faculdade de Farmácia, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, Minas Gerais 2007.

GIUSTI, M. M.; WROLSTAD, R. E. Anthocyanins: characterization and measurement with UV–Visible spectroscopy. In R. E. Wrolstald (Ed.), **Current Protocols in Food Analytical Chemistry**, New York: John Wiley and Sons, p. 1–13, 2001.

GLASSER, C. A. et al. Development of a water-in-oil-in-water multiple emulsion system integrating biomimetic aqueous-core lipid nanodroplets for protein entity stabilization. Part II: process and product characterization, **Drug Development and Industrial Pharmacy**, v. 42, n. 12, p. 1990-2000, 2016.

GOUVÊA, A. C. M. S. et al. Anthocyanins standards (cyanidin-3-O-glucoside and cyanidin-3-O-rutinoside) isolation from freeze-dried açaí (*Euterpe oleraceae* Mart.) by HPLC, **Ciência e Tecnologia de Alimentos**, v. 32, n. 1, p. 43-46, 2012.

GUIMARAES, W.; ALVES, M. I. R.; ANTONIOSI FILHO, N. R. Antocianinas em extratos vegetais: aplicação em titulação ácido-base e identificação via cromatografia líquida/espectrometria de massas. **Química. Nova**, v.35, n.8, 1673-1679, 2012.

GUTKOSKI, L.C. et al. Desenvolvimento de barras de cereais à base de aveia com alto teor de fibra alimentar. **Ciência Tecnologia de Alimentos**, v 27, n.2, p. 355-363, 2007.

HALLIWELL, B. Reactive oxygen species in living systems: source, biochemistry, and role in human disease. **American Journal of Medicine**, vol. 91, n. 3, p. S14–S22, 1991.

HALLIWELL, B. Reactive oxygen species and the central nervous system. **Journal of Neurochemistry**, v. 59, n. 5, p.1609–23, 1992.

HALLIWELL, B, GUTTERIDGE, J. The antioxidants of human extracellular fluids. **Archives of Biochemistry and Biophysis**, v. 280, n.1, p.1–8, 1990.

HALLIWELL, B. et al. The definition and measurement of antioxidants in biological systems**. Free Radical Biological Medicine**, v. 18, n. 1, p. 125–6, 1995.

HIDALGO, M.; SÁNCHEZ-MORENO, C.; PASCUAL-TERESA, S. Flavonoid-flavonoid interaction and its effect on their antioxidant activity. **Food Chemistry**, v.121, p. 691-696, 2010.

HENDERSON, A. **The genus Euterpe in Brazil**. In: REIS, M.S.; REIS, A. (Eds.) *Euterpe edulis* Martius – (Palmiteiro) biologia, conservação e manejo. Itajaí: Herbário Barbosa Rodrigues, 2000.

HORST, B. L.; PARIZE, A.L.; SOUZA, T.C.R. **Microencapsulação do corante natural antocianina em matriz polimérica de quitosana utilizando tartarato de sódio e potássio como solução de impregnação**. Anais do 10° Congresso Brasileiro de Polímeros – Foz do Iguaçu, PR – Outubro, 2009.

IAL. Instituto Adolpho Lutz. **Métodos Físico-Químicos para Análise de Alimentos** - IVª Edição, 1ª Edição Digital, São Paulo: Secretaria do Estado da Saúde, 2008, 1020 p.

INADA, K. O. P. et al. Screening of the chemical composition and occurring antioxidants in jabuticaba (*Myrciaria jaboticaba*) and jussara (*Euterpe edulis*) fruits and their fractions, **Journal of Functional Foods**, v. 17, p. 422-433, 2015.

JORGENSEN, J. H.; FERRARO, M. J. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. **Clinical Infectious Diseases**, v. 49, n. 11, p. 1749-1755, 2009.

JU, Z. Y.; HOWARD, L.R. Subcritical water and sulfured water extraction of anthocyanins and other phenolics from dried red grape skin. **Journal of Food Science**, v. 70, p. S270-S273, 2005.

KALT, W. Effects of production and processing factors on major fruit and vegetable antioxidants. **Journal of Food Science**, v. 70, n. 1, p. R11–9, 2005.

KEDARE, S.B.; SINGH, R.P. Genesis and development of DPPH method of antioxidant assay. **Journal Food Science Technology**, v.48, n. 4, p. 412–422, 2011.

KIRALP, S.; TOPPARE, L. Polyphenol content in selected Turkish wines, an alternative method of detection of phenolics. **Process Biochemistry**, v. 41, n. 1, p. 236-239, 2006.

KUMAR, S.; SANDHIR, R.; OJHA, S. Evaluation of antioxidant activity and total phenol in different varieties of Lantana camara leaves **BMC Research Notes**, v. 7, p. 560-568, 2014.

LEE, J., RENNAKER, C. and WROLSTAD, R.E. Comparison of two methods for anthocyanin quantification. **Acta Horticulturae**., v, 810, p. 831-834. 2009.

LEE, J.; DURST, R. W.; WROLSTAD, R. E. Determination of total monomeric anthocyanin pigment content of fruit juices, beverages, natural colorants, and wines by the pH differential method: collaborative study. **Journal of AOAC International**, v. 88, n. 5, p. 1269-1278, 2005.

LEITE, S. T., **Iogurte simbiótico de açai (Euterpe edulis Mart.): caracterização físico-química, e viabilidade de bactérias láticas e probióticas**. Dissertação de Mestrado, Universidade Federal do Espírito Santo, Vitória, 2015.

LI, D. et al. Health benefits of anthocyanins and molecular mechanisms: Update from recent decade. **Critical Reviews in Foood Science and Nutrition**, v. 57, n. 8, p.1729–1741, 2017.

LIM, J. Hedonic scaling: A review of methods and theory. **Food Quality and Preference** v. 22, p. 733–747, 2011.

LIMA, A. J. B. et al. Anthocyanins, pigment stability and antioxidant activity in jabuticaba [*Myrciaria cauliflora* (Mart.) O. Berg], **Revista Brasileira de Fruticultura** v. 33, n.3, p. 877-887, 2011.

LIMA, C.P. et al. Conteúdo polifenólico e atividade antioxidante dos frutos da palmeira Juçara (*Euterpe edulis* Martius). **Revista Brasileira de Plantas Medicinais**, v.14, n.2, p.321-326, 2012.

LIMSITTHICHAIKOON, S. et al. Anthocyanin complex: characterization and cytotoxicity studies. **International Journal of Biological, Biomolecular, Agricultural, Food and Biotechnological Engineering**, v. 9 n. 2, p. 147-153, 2015.

LIRA, C.R.G. et al. Nutracêuticos: aspectos sobre segurança, controle de qualidade e legislação**.** **Revista Brasileira de Farmácia**, v.90,n.1, p. 45-49, 2009

LOPES, T. J. et al. Antocianinas: uma breve revisão das características estruturais e da estabilidade. **Revista Brasileira de Agrociência**, v.13, n.3, p. 291297, 2007.

MACHADO, W. M.; PEREIRA, A. D.; MARCON, M.V. Efeito do processamento e armazenamento em compostos fenólicos presentes em frutas e hortaliças. **Publicatio Uepg: Ciências Exatas e da Terra, Agrárias e Engenharias** v. 19, n 1, p. 17-30, 2013.

MALLA, S.; HOBBS, J.E.; SOGAH, E.K. Functional foods, health benefits and health claims. **Athens Journal of Health**, v 1, n. 1, p. 37-45, 2014.

MARCO, H.M.F. **Valorização *do fruto da Jussara (Euterpe edulis M*artius): aplicação em formulações cosméticas**. Dissertação de Mestrado. Programa de Pós-Graduação em Ciências Framacêuticas da Universidade de Sorocaba, 2017

MARÇO, P.H.; POPPI, R.J.; SCARMINIO, I.S. Procedimentos analíticos para identificação de antocianinas presentes em extratos naturais. **Química Nova** v.31, n.5, p.1218-1223, 2008.

MARKAKIS, P. **Stability of anthocyanins in foods**. In: MARKAKIS, P. Anthocyanins as food colors. New York: Academic Press, p. 163-180, 1982.

MARTINS, N. et al. Food colorants: challenges, opportunities and current desires of agroindustries to ensure consumer expectations and regulatory practices. **Trendes in Food Science & Technology** v. 52, p. 1-15, 2016.

MARTINS, R. C. **A família Arecaceae (Palmae) no Estado de Goiás: florística e etnobotânica**. Tese (Doutorado em Botânica) - Departamento de Pós-Graduação em Botânica do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade de Brasília, Brasília, 2012.

MBONYIRYIVUZE, A. et al. Natural dye sensitizer for grätzel cells: sepia melanin. **Physics and Materials Chemistry**, v.3, n.1, p. 1-6, 2015.

MENDES, N.S.R. et al. Oxidative stability of cereal bars made with fruit peels and baru nuts packaged in different types of packaging. **Journal Food Science Technology**, v.33, n.4, p. 730-736, 2013.

MIGUEL, M.G. Anthocyanins: antioxidant and/or anti-inflammatory activities**. Journal of Applied Pharmaceutical Science**, v.1, n.06, p 7-15, 2011.

MIRAJE, S.Y. et al. Anthocyanin extraction from winery Waste material: a review. **Journal of Innovations in Pharmaceuticals and Biological Sciences**, v. 2, n. 2, p. 218-221, 2015.

MOON, P. O futuro incerto do palmito juçara. Agência Fapesp. Disponível em: http://www.icmbio.gov.br/parnaitatiaia/images/stories/o-que-fazemos/Ag%C3%AAncia_FAPESP___O_futuro_incerto_do_palmito_ju%C3%A7ara.pdf. Acesso em 25/10/2017.

MORAES, F.P.; COLLA, L.M. Alimentos funcionais e nutracêuticos: definições, legislação e benefícios à saúde. **Revista Eletrônica de Farmácia,** v. 3, n 2, p. 109-122, 2006.

MORITA, T.; ASSUMPÇÃO, R.M.V. **Manual de soluções, reagentes e solventes.** 2 ed. São Paulo: Editora Edgard Blücher Ltda, 1998, p 275.

MUCHUWETI, M.; CHIKWAMBI, Z. Isolation and identification of anthocyanins in the fruit peels of starkrimson and Marx Red Bartlett common pear cultivars and their bud mutants. **American Journal of Food Technology**, v. p. 1-12, 2008.

NAKANO, Y.; TAKESHITA, K.; TSUTSUMI, T. Adsorption mechanism of hexavalent chromium by redox within condensed-tannin gel. **Water Research**, v. 35, p. 496-500, 2001.

NEGRI, M.L. S.; POSSAMAI, J.C.; NAKASHIMA. T. Atividade antioxidante das folhas de espinheira-santa - *Maytenus ilicifolia* Mart. ex Reiss., secas em diferentes temperaturas. **Brazilian Journal of Pharmacognosy** v 19, n 2B, p. 553-556, 2009.

NEVES, L.T.B.C. et al. Qualidade de frutos processados artesanalmente de açaí (*Euterpe oleracea* Mart.) e bacaba (*Oenocarpus bacaba* Mart.). **Revista Brasileira de Fruticultura** v. 37, n.3, p. 729-738, 2015.

OLIVEIRA JUNIOR, J.M.R.; MARTINS, A.C.G. Construction and test of low cost X-ray tomography scanner for physical, chemical analysis and non-destructive inspections. **AIP Conference Proceedings**., v. 1139, p.102-105, 2009.

OLIVEIRA, M. A, YOSHIDA, M.I.; GOMES, E.C.L. Análise térmica aplicada a fármacos e formulações farmacêuticas na indústria farmacêutica. **Química Nova**, v. 34, n. 7, p. 1224-1230, 2011.

OSTROSKY, E. A. et al. Métodos para avaliação da atividade antimicrobiana e determinação da Concentração Mínima Inibitória (CMI) de plantas medicinais. **Revista Brasileira de Farmacognosia** v.18, n.2, p.301-307, 2008.

ORTIZ, M.A. et al. Propiedades funcionales de las antocianinas. **Revista de Ciencias Biológicas y de la Salud (BIOtecnia)** v. XIII, n2, p 16-22, 2011.

OZACAR, M.; SOYKAN, C.; SENGIL, I. A. Studies on synthesis, characterization, and metal adsorption of mimosa and valonia tannin resins. **Journal of Applied Polymer Science**, v. 102, p. 786-797, 2006.

PAIM, D.R.S.F. et al. Microencapsulation of probiotic jussara (*Euterpe edulis* Martius) juice by spray drying**. LWT- Food Science and Techonolgy,** v. 74, p. 21-25, 2016.

PANDEY,M.; VERMA, R.K.; SARAF, S.A. Nutraceuticals: new era of medicine and health. **Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research,** v.3, n.1, p.11-15, 2010

PEDROTTI, A. et al. Tomografia computadorizada aplicada a estudos de um Planossolo. **Pesquisa Agropecuária Brasileira**, v. 38, n.7, p. 819-826, 2003.

PEIXOTO, H. et al. An anthocyanin-rich extract of acai (*Euterpe precatoria* Mart.) increases stress resistance and retards aging-related Markers in Caenorhabditis elegans. **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, v. 64, p.1283-1290, 2016.

PORTINHO, J. A.; ZIMMERMANN. L.M.;BRUCK, M. R. Efeitos beneficos do açaí. **International Journal of Nutrology**, v.5, n.1, p. 15-20, 2012.

PRIETO, P.; PINEDA, M.; AGUILAR, M. Spectrofotometric quantification of antioxidant capacity through the formation of a phosphomolybdenum complex: specific application to the determination of vitamin E**. Analytical Biochemistry** v.269, p. 337-341, 1999.

QIN, C.; LI, Y.; NIU, W.; DING, Y.; ZHANG, R.; SHANG, X. Analysis and Characterisation of Anthocyanins in Mulberry Fruit, **Czech Journal of Food Science**, v. 28, n. 2, p. 117-126, 2010.

R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, 2016, Austria. ISBN 3-900051-07-0, URL. Disponível em: http://www.R-project.org/

RAGHVENDRA, Mr. et al. Chemical and potential aspects of anthocyanins – a water-soluble vacuolar flavonoid pigments: a review. **International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research,** v.6, n. 1, p 28-33, 2011.

RIBEIRO, L.O.; MENDES; M.F.; PEREIRA, C.S.S. Avaliação da composição centesimal, mineral e teor de antocianinas da polpa de Juçaí (*Euterpe edulis* Martius) **Revista Eletrônica TECCEN**, v. 4, n. 2, p. 5-16, 2011.

RODRIGUEZ-AMAYA, D.B. Natural food pigments and colorants. **Food Science**, v.7, p. 20-26, 2016.

SANTOS, A.C.A. et al. Potencial antioxidante de antocianinas em fontes alimentares: revisão sistemática**. Revista Interdisciplinar (UNINOVAP**). v. 7, n. 3, p. 149-156, 2014.

SANTOS, D. T. et al. Stabilization of anthocyanin extract from jabuticaba skins by encapsulation using supercritical CO_2 as solvent. **Food Research International** v. 50, p. 617-624, 2013.

SCARDI, P.; LEONI, M.; DELHEZ, R. Line broadening analysis using integral breadth methods: a critical review. **Journal of Applied Crystallography**, v. 37, p. 381–390, 2004.

SCHERRER, P. Bestimmung der Grösse und der inneren Struktur von Kolloidteilchen mittels Röntgenstrahlen, **Nachrichten von der Gesellschaft der Wissenschaften zu Göttingen**, v. 26, p. 98-100, 1918.

SCHULZ, M. et al. Juçara fruit (*Euterpe edulis* Mart): sustainable exploitation of a source of bioactive compounds. **Food Research International**. v. 89, p. 14-26, 2016.

SCHULZ, M. et al. Chemical composition, bioactive compounds and antioxidant capacity of juçara fruit (*Euterpe edulis* Martius) during ripening. **Food Research International**, v. 77, p. 125-131, 2015.

SILVA, J.; FONSECA, M. B. Estudos toxicológicos no ambiente e na saúde humana. In: SILVA, J.; ERDTMANN, B.; HENRIQUES, J. A. P. **Genética Toxicológica**. Porto Alegre: Alcance, 2003.

SILVA, P. I. et al. Parameter optimization for spray-drying microencapsulation of jaboticaba (*Myrciaria jaboticaba*) peel extracts using simultaneous analysis of responses**. Journal of Food Engineering** v.117, p. 538-544, 2013.

SILVA, E.P. et al. Physicochemical and sensory characteristics of snack bars added of jerivá flour (*Syagrus romanzoffiana*). **Food Science and Technology**, 2016 Disponível em http://www.scielo.br/pdf/cta/2016nahead/0101-2061-cta-1678-457X08115.pdf. Acesso em 20/07/2017.

SILVA, T. L. et al. Evaluation of molecular weight distribution of sericin in solutions concentrated via precipitation by ethanol and precipitation by freezing/thawing. **Chemical Engineering Transactions** v**.** 38, p. 103-108, 2014.

SOUZA, C.M.M. et al., Fenóis totais e atividade antioxidante de cinco plantas medicinais. **Química Nova** v 30, n 2, p. 351-355, 2007.

SOUZA, M.S.M. **Desenvolvimento de barra de cereal com alto teor de fibras.** Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-graduação em Ciências Farmacêuticas da Universidade de Sorocaba, 2014.

SKALSKA-KAMINSKA, A. et al. Thin-layer chromatography of sugars in plant material, **Annales Universitatis Mariae Curie** - Skłodowska XXII, vol. 4, p. 17-24, 2009.

SKOOG, D. A.; HOLLER, F. J.; CROUCH, S. R. **Principles of Instrumental Analysis**, 6th ed., Canada: Thomson, 2007.

STAFFORD, H. A. Anthocyanins and betalains: evolution of the mutually exclusive pathways. **Plant Science**, v. 101, n. 2, p. 91–98, 1994.

STRACK,M.H.; SOUZA, C.G. Antocianinas, catequinas e quercetina: evidências na prevenção e no tratamento das doenças cardiovasculares. **Revista Brasileira de Nutrição Clínica** 2012 v. 27, n.1, p 43-50, 2012.

SUCROSE CONVERSION TABLE. United States Departamant of Agriculture. File code 135-A-50. U.S. National Bureau of Standards Circular C457. http://www.greenwoodassociates.com/certs/Detailed%20 Brix%20Chart.pdf. Acesso em 15/06/2017

SUCUPIRA, N.R. et al. Métodos para determinação da atividade antioxidante de frutos. **UNOPAR Cientifica Ciências Biológicas e da Saúde**, v. 14, n. 4, p. 263-269, 2012.

SYAFINAR, R. et al. FT-IR and UV-VIS Spectroscopy photochemical analysis of dragon fruit, **ARPN Journal of Engineering and Applied Sciences**, v. 10, n. 15, p. 6354-6358, 2015.

TEIXEIRA, L. V. Análise sensorial na indústria de alimentos. **Revista Instituto Laticínios Cândido Tostes**, v 366, n. 64, p. 12-21, 2009.

TEIXEIRA, L.N.; STRINGHETA, P.C.; OLIVEIRA, F.A. Comparação de métodos para quantificação de antocianinas. **Revista Ceres**, v. 54, n4, p 297-304, 2008

TEIXEIRA, C.E. **Sobre a teoria da difração de raios-X em estruturas tridimensionais**. Dissertação de Mestrado, Programa de Pós-Graduação em Engenharia Metalúrgica, Materiais e de Minas, Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.

TERCI, D. B. L. **Aplicações analíticas e didáticas de antocianinas extraídas de frutas**. 213f, tese (Doutorado em Química e Educação) – Departamento de Química Analítica, Universidade de Campinas, São Paulo, 2004.

TERPINC, P.; ABRAMOVIC, H. A kinetic approach for evaluation of the antioxidant activity of selected phenolics acids, **Food Chemistry**, vol. 121, p. 366-371, 2010.

TOMÁS-BARBERAN, F. A.; ESPÍN, J. C. Phenolic compounds and related enzymes as determinants of quality in fruits and vegetables. **Journal of the Science of Food and Agriculture**, vol. 81, p. 853-876, 2001.

VALLADARES NETO, J. et al. Boxplot: um recurso gráfico para a análise e interpretação de dados quantitativos. **Revista de Odontologia Brasileira Central**, v. 26, n.76, p. 1-6, 2017.

VASINCU, A. et al. Vernonia kotschyana roots: therapeutic potential via antioxidant activity, **Molecules**, v. 19, p. 19114-19136, 2014.

VIEIRA, G.S. et al. Chemical and economic evaluation of natural antioxidant extracts obtained by ultrasound-assited and agitated bed extraction from jussara pulp (*Euterpe edulis*). **Journal of Food Engineering**, v. 119, p. 196-204, 2013.

VINADÉ, M.E.C.; VINADÉ, E.R.C. **Métodos espectroscópicos de análise quantitativa**. Santa Maria: Editora UFSM, 2005.

VIZZOTTO, M. Propriedades funcionais das pequenas frutas **Informe Agropecuário**, Belo Horizonte, v.33, n. 268, p.84·88, 2012.

WU, J.-H.; WANG, Z.; XU, S.-Y. Preparation and characterization of sericin powder extracted from silk industry wastewater, **Food Chemistry**, v.103, n.4, p.1255-1262, 2007.

YOUNG, A. L. Powder X-ray diffraction and its application to biotherapeutic formulation development. **American Pharmaceutical Review** (available online at: http://www.americanpharmaceuticalreview.com/Featured-Articles/38371-Powder-X-ray-Diffraction-and-its- Application-to-Biotherapeutic-Formulation-Development/), 2012.

ZAR, J. H. **Biostatístical analysis**. 5. ed. New Jersey: Pearson Prentice Hall, p.944, 2010.

ANEXO I

UNIVERSIDADE DE SOROCABA

Plataforma Brasil

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DA EMENDA

Título da Pesquisa: Produção e caracterização de extrato antocianínico a partir dos frutos da Jussara (Euterpe edulis Martius): avaliação do potencial de incorporação em barras nutracêuticas à base de aveia.

Pesquisador: LAURA ISABELLA LOPES FAVARO

Área Temática:

Versão: 3

CAAE: 65101817.2.0000.5500

Instituição Proponente: FUNDAÇÃO DOM AGUIRRE

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 2.076.618

Apresentação do Projeto:

Este projeto trata-se de um dissertação de mestrado. A palmeira Jussara (Euterpe edulis Martius), originária da Mata Atlântica, produz palmito e cachos de frutos arredondados de cor roxa escura, ricos em antocianinas. Na indústria de alimentos, as antocianinas são empregadas como corantes naturais. Além disto, apresentam elevada capacidade antioxidante, com comprovados efeitos benéficos para a saúde. As barras de cereais representam uma alternativa de complemento alimentar à base de carboidratos, proteínas e fibras. Assim acrescentar antocianina em barras de cereais pode oferecer novas oportunidades de mercado visando
atender a crescente preocupação da população por uma alimentação saudável

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

O objetivo desta pesquisa será produzir e caracterizar um extrato antocianínico obtido a partir dos frutos da Jussara e avaliar sua incorporação em barras de cereais à base de aveia.

Objetivo Secundário:

Realizar a extração das antocianinas nos frutos da Jussara (Euterpe edulis Martius);Caracterizar físico-quimicamente e avaliar a atividade antimicrobiana do extrato antocianínico obtido;

Endereço: Rodovia Raposo Tavares, km 92,5
Bairro: Vila Artura **CEP:** 18.023-000
UF: SP **Município:** SOROCABA
Telefone: (15)2101-7101 **Fax:** (15)2101-7073 **E-mail:** cep@uniso.br

Incorporar o extrato antocianínico em formulação de barras de cereal a base de aveia, de modo a obter 4 (quatro) concentrações diferentes de extrato antocianinico; Avaliar características sensoriais das barras de cereais com o extrato bruto da Jussara (aparência, sabor, textura, aparência global) e intenção de compra;

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Não haverá riscos e prejuízos de qualquer espécie para os participantes bem como desconfortos, riscos morais ou constrangimentos provocados pela pesquisa. As barras de cereais serão produzidas de acordo com as Boas Práticas de Manipulação de Alimentos. Todos os ingredientes serão obtidos de distribuidoras de alimentos idôneas atendendo aos atributos nutricionais e sanitários adequados ao uso alimentar. Os componentes da formulação das barras de cereais desenvolvidas no presente projeto são de uso comum, tradicionalmente empregados na produção de barras de cereais. Para a produção das micropérolas serão utilizados: alginato de cálcio, espessante natural utilizado em diversos produtos alimentares; antocianina , corante natural presente em frutas e flores vermelhas, os quais são considerados produtos GRAS (do inglês Generally Recognized Safe) ou Produtos Reconhecidos como Seguros).

Benefícios:

Além de suas funções como corantes naturais, as antocianinas têm apresentado grandes benefícios a saúde devido suas atividades biológicas, que incluem propriedades antioxidantes, antiinflamatórias, inibição da oxidação do colesterol LDL, diminuição dos riscos de doenças cardiovasculares e de câncer. Assim, o desenvolvimento de um alimento com a inclusão de antocianinas pode contribuir para o desenvolvimento de um alimento nutracêutico. Ao final da pesquisa, o participante receberá os resultados e poderá acompanhar o andamento do projeto.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa relevante, de cunho nutracêutico que tem sido de grande importância.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Foram apresentados todos os termos obrigatórios.

O TCLE esta de acordo com as especificações, foram postados todos os currículo Lates dos pesquisadores.

Recomendações:

O projeto está de acordo com as normas estabelecidas pelo CEP, na postagem, documentação, cronograma e motivos de suspensão ou cancelamento da pesquisa.

Endereço: Rodovia Raposo Tavares, km 92,5
Bairro: Vila Artura **CEP:** 18.023-000
UF: SP **Município:** SOROCABA
Telefone: (15)2101-7101 **Fax:** (15)2101-7073 **E-mail:** cep@uniso.br

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

Aprovado

Considerações Finais a critério do CEP:

Os pesquisadores solicitam alterações, conforme projeto postado. A barra de cereal original teria a inclusão de micropérolas de alginato de cálcio e sericina as quais conteriam extrato de antocianinas originado da fruta Jussara (Euterpe edulis). Em testes preliminares, a adição das micropérolas mostrou-se inadequada em função da dureza das micropérolas.

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_918755 E1.pdf	16/05/2017 22:39:31		Aceito
Outros	Folha_de_rosto_1.pdf	16/05/2017 22:37:05	LAURA ISABELLA LOPES FAVARO	Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Relatorio_CEP.docx	16/05/2017 22:35:44	LAURA ISABELLA LOPES FAVARO	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE.docx	16/05/2017 22:34:11	LAURA ISABELLA LOPES FAVARO	Aceito
Outros	Emenda.doc	16/05/2017 20:12:51	LAURA ISABELLA LOPES FAVARO	Aceito
Outros	Autorizacao_uso_lab_alimentos.docx	15/05/2017 23:16:12	LAURA ISABELLA LOPES FAVARO	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_rosto_finalizada.pdf	16/02/2017 20:19:04	LAURA ISABELLA LOPES FAVARO	Aceito
Outros	Lattes_Vitor_Balcao.pdf	16/02/2017 20:16:20	LAURA ISABELLA LOPES FAVARO	Aceito
Outros	Lattes_Marta_Vila.pdf	16/02/2017 20:15:47	LAURA ISABELLA LOPES FAVARO	Aceito
Outros	Lattes_Laura_Favaro.pdf	16/02/2017 20:15:08	LAURA ISABELLA LOPES FAVARO	Aceito

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Endereço: Rodovia Raposo Tavares, km 92,5
Bairro: Vila Artura **CEP:** 18.023-000
UF: SP **Município:** SOROCABA
Telefone: (15)2101-7101 **Fax:** (15)2101-7073 **E-mail:** cep@uniso.br

SOROCABA, 22 de Maio de 2017

Assinado por:
Raquel de Mendonça Rosa Castro
(Coordenador)

Endereço: Rodovia Raposo Tavares, km 92,5
Bairro: Vila Artura **CEP:** 18.023-000
UF: SP **Município:** SOROCABA
Telefone: (15)2101-7101 **Fax:** (15)2101-7073 **E-mail:** cep@uniso.br

APÊNDICE I

Ficha de teste de aceitação e intenção de compra

Nome: ____

Data: ___/____/____ Idade: _______ Sexo: ( )F ( ) M

Avalie utilizando a escala abaixo, o quanto você GOSTOU ou DESGOSTOU de cada atributo do produto:

Amostra	L10	L24	L07	L90
Aparência				
Sabor				
Textura				
Aspecto Global				

9 – gostei extremamente

8 – gostei muito

7 – gostei moderadamente

6 – gostei ligeiramente

5 – nem gostei e nem desgostei

4 – desgostei ligeiramente

3 – desgostei moderadamente

2 – desgostei muito

1 – desgostei extremamente

Indique a INTENÇÃO DE COMPRA do produto, utilizando-se da escala abaixo:

Amostra	L10	L24	L07	L90
Intenção de Compra				

5 – certamente eu compraria

4 – provavelmente eu compraria

3 – talvez eu compraria

2 – provavelmente eu não compraria

1 – certamente eu não compraria

APÊNDICE II

TCLE - TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

O Sr.(a) está sendo convidado(a) a participar como voluntário(a) desta pesquisa. A sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, poderá desistir e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador (a) ou com a Instituição.

O Sr.(a) receberá uma via original deste termo onde constam o telefone e endereço do pesquisador(a) responsável e equipe de pesquisa, podendo tirar dúvidas do projeto e de sua participação.

TÍTULO DA PESQUISA: Produção e caracterização de extrato antocianínico a partir dos frutos da Jussara (*Euterpe edulis* Martius): avaliação do potencial de incorporação em barras nutracêuticas à base de aveia.

OBJETIVOS: O objetivo desta pesquisa será produzir e caracterizar um extrato antocianínico obtido a partir dos frutos da Jussara e avaliar sua incorporação em barras de cereais à base de aveia.

PROCEDIMENTOS DO ESTUDO: Ao concordar em participar da pesquisa, você deverá responder um questionário sobre sabor, textura, aparência e intenção de compra ao produto estudado. As amostras estarão prontas para consumo, e o resultado da pesquisa mostrará o grau de aceitabilidade de um novo produto que levará ao consumidor os benefícios dos alimentos nutracêuticos. Você também será informado sobre todos os componentes da formulação para que seja manifestada qualquer intolerância alimentar, alergias ou aversão em relação às substâncias utilizadas na formulação das barras de cereais.

RISCOS E DESCONFORTOS: Não há

CUSTO/REEMBOLSO PARA O PARTICIPANTE: Participação voluntária sem custos e sem reembolso.

CONFIDENCIALIDADE DA PESQUISA: Termo de Confidencialidade assinados pelos pesquisadores com validade de 20 anos.

____

Assinatura do Pesquisador Responsável

CONSENTIMENTO DE PARTICIPAÇÃO DA PESSOA COMO SUJEITO

Eu,____,RG ____________________ CPF__________________, declaro que li as informações contidas no Termo de Consentimento Livre e Esclarecido do projeto intitulado ”Produção e caracterização de extrato antocianínico a partir dos frutos da Jussara (*Euterpe edulis* Martius): avaliação do potencial de incorporação em barras nutracêuticas à base de aveia.”, que tem como pesquisadora responsável Laura Isabella Lopes Favaro, e equipe de pesquisa Profª Drª Marta Maria Duarte Carvalho Vila e Prof. Dr. Victor Manuel Cardoso Figueiredo Balcão, fui devidamente informado(a) de todos os procedimentos que serão utilizados, custo/reembolso dos participantes, confidencialidade da pesquisa e concordo em participar.

Foi-me garantido também que posso retirar o consentimento a qualquer momento, sem que isso leve a qualquer penalidade.

Declaro ainda que recebi uma via do Termo de Consentimento.

Sorocaba,_____de___________ de 2017

Nome do participante da pesquisa:______________________________

Assinatura do participante da pesquisa:_____________________________

LAURA ISABELLA LOPES FAVARO - Possui graduação em Farmácia (2015) e Mestra em Ciências Farmacêuticas (2017) pela Universidade de Sorocaba, na área de Desenvolvimento e Avaliação de Substâncias Bioativas. Realizou estágio no Canadá no ano de 2009, na AHF Aerated Home Furnishings, no Departamento de Qualidade de Produtos. Em 2014 realizou estágio em análises clínicas no IDS (Instituto de Diagnóstico de Sorocaba) e no setor de farmácia hospitalar no Hospital Evangélico de Sorocaba que atuou também como auxiliar de farmácia e farmacêutica. Foi aluna bolsista da Universidade de Sorocaba por dois anos (Probic/Uniso) onde esteve envolvida com projetos de pesquisa e extensão. Na área de pesquisa tem experiência em desenvolvimento e qualidade de sistemas de liberação modificada de fármacos. (Texto informado pelo autor)

PROFESSORA DRª MARTA MARIA DUARTE CARVALHO VILA - Possui graduação em Farmácia e Bioquímica pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas de Ribeirão Preto/Universidade de São Paulo (USP-RP) (1984); Graduação em Farmácia Industrial pela Faculdade de Ciências Farmacêuticas / Pontifícia Universidade Católica de Campinas (PUC-CAMPINAS) (1985); Mestrado em Tecnologia de Alimentos pela Faculdade de Engenharia de Alimentos / Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)(1996) e Doutorado em Química Analítica pelo Instituto de Química /Universidade Estadual de Campinas (Unicamp)(2002). Atua como docente na Universidade de Sorocaba (Uniso) no Curso de Ciências Farmacêuticas; no Programa de Pós-Graduação em Ciências Farmacêutica (PPGCF-Uniso); e no programa de Pós-Graduação em Processos Tecnológicos e Ambientais (PPGPTA - Uniso). Tem desenvolvido projetos relacionados com: controle de qualidade físico-químico de fármacos e medicamentos; otimização de formulações farmacêuticas; sistemas de liberação de fármacos e estabilização estrutural e funcional de entidades proteicas com ênfase em bacteriófagos. Atuou como pesquisadora colaboradora voluntária do Departamento de Química Analítica do Instituto de Química da Unicamp de 2004 a 2020. (Texto informado pelo autor)

CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATO ANTOCIANÍNICO A PARTIR DOS FRUTOS DA

Jussara

(*Euterpe edulis Martius*)

E INCORPORAÇÃO EM BARRAS DE CEREAIS

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

@atenaeditora

www.facebook.com/atenaeditora.com.br



Atena Editora

Ano 2023

CARACTERIZAÇÃO DE EXTRATO ANTOCIANÍNICO A PARTIR DOS FRUTOS DA

Jussara

(Euterpe edulis Martius)

E INCORPORAÇÃO EM BARRAS DE CEREAIS

www.atenaeditora.com.br

contato@atenaeditora.com.br

@atenaeditora

www.facebook.com/atenaeditora.com.br



Atena Editora

Ano 2023